

Aus der  
Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin  
(Leiter: Prof. Dr. med. T. Löscher)  
  
der Medizinischen Poliklinik Innenstadt  
(Direktor: Prof. Dr. med. M. Reincke)  
  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Kontrollierte Studie zur  
Prävalenz von Enteropathogenen der Reisediarrhö  
unter Reiserückkehrern**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Christopher Paschke  
aus München

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. Karl-Heinz Herbinger

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Julia Seiderer-Nack

Prof. Dr. med. Peter Stingl

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 12.03.2015

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

Wesentliche Teile dieser Dissertationsarbeit wurden bereits zur Veröffentlichung akzeptiert:

**Paschke C**, Apelt N, Fleischmann E, Perona P, Walentiny C, Löscher T, Herbinger KH.  
*Controlled study on enteropathogens in travellers returning from the tropics with and without diarrhoea.* Clinical Microbiology and Infection. 2011 Aug; 17(8): 1194-1200.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1.</b>	<b>Epidemiologie der Reisediarrhö</b>	<b>1</b>
1.1.1.	Definition	1
1.1.2.	Inzidenz	1
<b>1.2.</b>	<b>Pathomechanismus der Reisediarrhö</b>	<b>3</b>
1.2.1.	Ätiologie	3
1.2.2.	Pathophysiologie	6
<b>1.3.</b>	<b>Ausgewählte Enteropathogene der Reisediarrhö</b>	<b>7</b>
1.3.1.	Enterotoxigene <i>Escherichia coli</i>	7
1.3.2.	Enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>	8
1.3.3.	Norovirus	9
1.3.4.	Weitere Enteropathogene	10
<b>1.4.</b>	<b>Stand aktueller Diagnostik der Reisediarrhö</b>	<b>12</b>
1.4.1.	Diagnostik bakterieller Enteropathogene	13
1.4.2.	Diagnostik viraler Enteropathogene	13
1.4.3.	Diagnostik parasitärer Enteropathogene	14
1.4.4.	Ausblick	14
<b>2.</b>	<b>PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG</b>	<b>15</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>16</b>
<b>3.1.</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>16</b>
3.1.1.	Studienpopulation	16
3.1.2.	Fall- und Kontrollgruppe	17
<b>3.2.</b>	<b>Probennahme und Aufbereitung</b>	<b>17</b>
<b>3.3.</b>	<b>Molekularbiologische Labormethoden</b>	<b>18</b>
3.3.1.	RNA- und DNA-Extraktion	18
3.3.2.	Nachweismethoden der einzelnen Pathogene	19
3.3.2.1.	Genamplifikationsverfahren für Norovirus	19
3.3.2.2.	Konventionelle Polymerase Kettenreaktion für <i>Escherichia coli</i> -Pathovare	20
<b>3.4.</b>	<b>Statistische Analysemethoden</b>	<b>22</b>

<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>23</b>
<b>4.1.</b>	<b>Analysierte Daten der Studienpopulation</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2.</b>	<b>Analysierte Daten der Reiseanamnese</b> .....	<b>25</b>
<b>4.3.</b>	<b>Klinische Daten der Fallgruppe</b> .....	<b>25</b>
<b>4.4.</b>	<b>Laborergebnisse von Norovirus und der <i>Escherichia coli</i>-Pathovare</b> .....	<b>26</b>
<b>4.5.</b>	<b>Prävalenz anderer Enteropathogene</b> .....	<b>27</b>
<b>4.6.</b>	<b>Koinfektionen</b> .....	<b>29</b>
<b>4.7.</b>	<b>Relatives Risiko der Reisenden</b> .....	<b>30</b>
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>33</b>
<b>5.1.</b>	<b>Aussagekraft und Zuverlässigkeit der Studie</b> .....	<b>33</b>
<b>5.2.</b>	<b>Vergleich mit anderen Studien</b> .....	<b>34</b>
<b>5.3.</b>	<b>Schlussfolgerungen</b> .....	<b>37</b>
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>39</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>41</b>
<b>8.</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>50</b>
<b>9.</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>52</b>



## **1. EINLEITUNG**

---

### **1. EINLEITUNG**

#### **1.1. Epidemiologie der Reisediarrhö**

##### **1.1.1. Definition**

Das am häufigsten auftretende Symptom, unter dem Reisende während oder nach einer Fernreise leiden, ist die Diarrhö. Die klassische Reisediarrhö ist definiert als eine Passage von drei oder mehr ungeformten Stuhlgängen innerhalb von 24 Stunden, begleitet von mindestens einem typischen Symptom einer intestinalen Infektion, wie Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit, abdominelle Schmerzen/Krämpfe, Fieber oder Blut im Stuhl. Eine moderate Reisediarrhö wird beschrieben als eine Passage von einem oder zwei ungeformten Stuhlgängen innerhalb von 24 Stunden begleitet von einem typischen Symptom einer intestinalen Infektion oder eine Passage von mehr ungeformten Stuhlgängen ohne typische Symptome. Von einer milden Form der Reisediarrhö wird gesprochen, wenn der Patient über eine Passage von einem oder zwei ungeformten Stuhlgängen innerhalb von 24 Stunden ohne ein begleitendes, typisches Symptom einer intestinalen Infektion berichtet. Der Begriff der Reisediarrhö im Allgemeinen umschreibt jeweils alle drei Formen des Krankheitsbildes [1, 2].

Die Reisediarrhö kann grundsätzlich sowohl in einer akuten als auch in einer chronischen Form verlaufen. Die akute Reisediarrhö ist definiert durch eine maximale Dauer von 14 Tagen. Liegt sie darüber, spricht man hingegen von einer chronischen Reisediarrhö.

##### **1.1.2. Inzidenz**

Jedes Jahr erkranken weltweit geschätzt 1,7 Milliarden Menschen an einer Diarrhö. Gemäß der *World Health Organization* sterben insgesamt weltweit über 2 Millionen Menschen pro Jahr daran. Eine Durchfallerkrankung ist der zweithäufigste Grund für das Versterben von

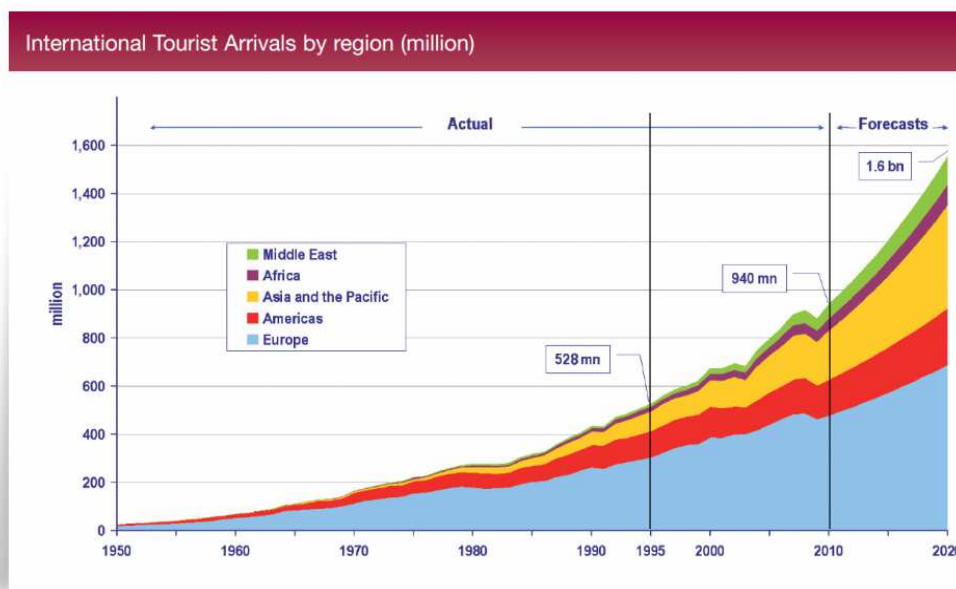


## 1. EINLEITUNG

---

Kindern unter 5 Jahren und ist damit für eine Mortalität von weltweit 760.000 Kindern pro Jahr verantwortlich. Die infektiöse Diarrhö ist dabei im Allgemeinen die häufigste Krankheitsursache, besonders in den weniger entwickelten Regionen der Tropen und Subtropen, und ist damit hauptsächlich der Grund für die beschriebene Morbidität und Mortalität [3].

Seit 1950 hat die Anzahl internationaler Reisen um das über 40-fache zugenommen, insbesondere jene in tropische und subtropische Länder. Aus diesem Grund nimmt auch die Häufigkeit importierter Krankheiten, v.a. Infektionskrankheiten, in fast allen Teilen der Welt zu [4, 5].



**Abbildung 1:**

Entwicklung der Anzahl internationaler Reisen von 1950 bis 2020.

[[http://www.intracen.org/uploadedImages/intracenorg/Content/Exporters/Sectoral\\_Information/Service\\_Exports/Tourism/International%20Tourist%20Arrivals%20by%20Region%20\(million\).jpg](http://www.intracen.org/uploadedImages/intracenorg/Content/Exporters/Sectoral_Information/Service_Exports/Tourism/International%20Tourist%20Arrivals%20by%20Region%20(million).jpg)]

Das häufigste Krankheitsbild unter Reisenden, vor allem jenen, die in tropische und subtropische Regionen reisen, ist die Diarrhö. Es stellen sich mehr als 30% der Patienten nach

## **1. EINLEITUNG**

---

Beendigung einer Reise wegen einer Diarrhö in reisemedizinischen Ambulanzen vor [5]. Abhängig von der Art der Reise, der Reisedauer und der Reisedestination tritt eine Reisediarrhö mit einer Inzidenzrate zwischen 10% und 60% bei international Reisenden während oder nach einer Reise auf [2, 6-10].

Hinsichtlich der Reisedestination werden die höchsten diesbezüglichen Inzidenzen für die Hochrisiko-Regionen Lateinamerika, Afrika und Südasien beschrieben. Die niedrigsten Inzidenzen werden hingegen für die Reisedestinationen USA, Kanada, Westeuropa, Japan, Australien und Neuseeland beobachtet. Für die Regionen China, Russland, den mittleren Osten und Südostasien werden dazwischen liegende Inzidenzen festgestellt [7].

Des Weiteren sind signifikant erhöhte Inzidenzen durch andere potentielle Risikofaktoren, wie z.B. junges Alter, lange Reisedauer, Abenteuerreise, Immunsuppression oder genetische Prädisposition möglich [11].

In den meisten Fällen ist eine Reisediarrhö innerhalb von weniger als einer Woche selbstlimitierend [8, 10]. Unter Reisenden aus Hochrisiko-Regionen beträgt die Proportion mit einer chronischen Verlaufsform 3%, wobei unter diesen in etwa in der Hälfte der Fälle die Durchfallsymptomatik länger als 30 Tage anhält [12, 13].

### **1.2. Pathomechanismus der Reisediarrhö**

#### **1.2.1. Ätiologie**

Das Spektrum potentieller Erreger für eine Reisediarrhö beinhaltet bakterielle, virale und parasitäre Enteropathogene. Während die Ätiologie der akuten Reisediarrhö mittels vieler Studien bereits ausgiebig untersucht wurde, ist noch ein deutlicher Bedarf an Untersuchungen zur Evaluierung der Pathogenese der chronischen Reisediarrhö notwendig [12, 13].

## 1. EINLEITUNG

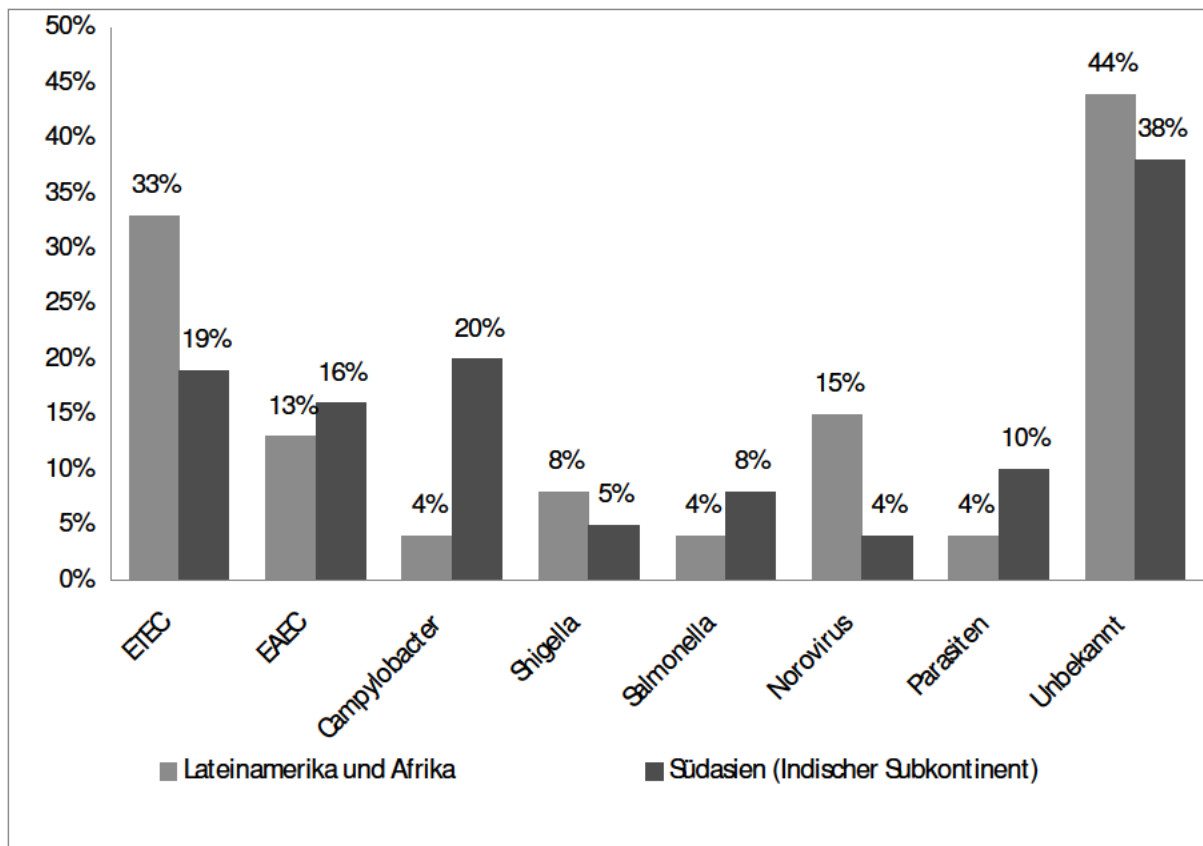
---

Derzeit scheint es, dass bis zu 80% der Fälle einer akuten Reisediarrhö mit einer bakteriellen Genese erklärt werden können [7, 11]. Darunter werden pathogene *Escherichia coli* Stämme, insbesondere enterotoxigene *Escherichia coli* (ETEC) und enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) als die weltweit am häufigsten nachgewiesenen Pathogene beschrieben und gelten somit als die wichtigsten Auslöser einer akuten Reisediarrhö [7, 14, 15]. Weitere bakterielle Enteropathogene, die in Abhängigkeit von unterschiedlichen Regionen in nennenswerten prozentualen Anteilen als Ursache der akuten Reisediarrhö vorkommen, sind *Campylobacter jejuni*, *Shigella spp.* und *Salmonella spp.* [7].

Das Norovirus wird als die weltweit häufigste nicht-bakterielle Ursache einer akuten Reisediarrhö betrachtet, mit der bis zu 15% aller Fälle erklärt werden [7, 16]. Als kleinste repräsentative Gruppe können parasitäre Erreger, wie beispielsweise *Gardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.*, *Entamoeba histolytica*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* und *Schistosoma spp.*, in einer Proportion von 2% bis 10% der Fälle einer akuten Reisediarrhö gefunden werden [14]. Weiterhin bleibt jedoch ein hoher Prozentsatz (etwa 20-40%) von Fällen einer akuten Reisediarrhö ohne Nachweis von ursächlichen Pathogenen [7]. Zusammenfassend sind ätiologische Vertreter der akuten Reisediarrhö in Abhängigkeit unterschiedlicher Weltregionen in Abbildung 2 dargestellt.

## 1. EINLEITUNG

---



**Abbildung 2:**

Proportionen von im Stuhl nachgewiesenen potentiellen Enteropathogenen für die Reisediarrhö, stratifiziert nach Reiseziel. Veränderte Darstellung aus [7].

Bei der Ermittlung der Ätiologie einer chronischen Reisediarrhö bleibt die Mehrheit der Fälle ohne ursächlichen Pathogennachweis, wobei berücksichtigt werden muss, dass bisher nur wenige Studien über potentielle Pathogene einer chronischen Reisediarrhö durchgeführt wurden [13]. Als Ursache für eine chronische Reisediarrhö werden Parasiten als die wichtigste und häufigste Erregergruppe beschrieben [11, 17]. Darunter sind vor allem *Giardia lamblia* und *Cryptosporidium spp.* zu nennen [13, 18, 19]. Abgesehen von diesen Protozoen wird vermutet, dass EAEC als Ursache einer chronischen Reisediarrhö eine ausschlaggebende Rolle spielen könnte [12, 15, 20]. Obwohl der exakte diesbezügliche Pathomechanismus nicht ausreichend bekannt ist, wurde EAEC, insbesondere unter Kindern, bereits mehrfach als ursächliches Pathogen einer persistierenden Durchfallerkrankung in Entwicklungsländern

## 1. EINLEITUNG

---

beschrieben [11, 21-23]. Weitere bakterielle Enteropathogene, die zu einer chronischen Reisediarrhö führen können, sind *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.* und in seltenen Fällen *Tropheryma whippelii* [11].

### 1.2.2. Pathophysiologie

Die Pathophysiologie einer akuten Durchfallsymptomatik beruht in der Regel auf sekretorischen und inflammatorischen Veränderungen im Magen-Darm-Trakt, insbesondere im Zusammenhang mit intestinalen Infektionen [24]. Enteropathogene, wie beispielsweise ETEC und *Vibrio cholerae*, entfalten vornehmlich durch sekretorische Prozesse ihren Einfluss und bewirken dadurch typischerweise eine Hemmung der Wasser- und Elektrolytresorption (NaCl-Resorption) bzw. eine Stimulation der intestinalen Wasser- und Elektrolytsekretion (Anionensekretion). Andere Enteropathogene (z.B. *Shigella*, *Entamoeba histolytica* und *Campylobacter jejuni*) bewirken hingegen durch Freisetzung von Zytokinen sowie anderen Entzündungsmediatoren und Mastzelldegranulation vorwiegend inflammatorische Reaktionen, die unter anderem zu einer Steigerung der Darmperistaltik und einer Mukosazerstörung mit Permeabilitätszunahme führen. Die Wirkung der meisten, intestinalen Pathogene wird jedoch durch Anteile von beiden Mechanismen verursacht.

Einige andere Enteropathogene können jedoch auch aufgrund nicht-sekretorischer intestinaler Mechanismen zu einer typischen Symptomatik einer intestinalen Infektion führen. Für diese Pathogene kann beispielsweise ein Mechanismus genannt werden, der einen Laktasemangel im Dünndarm verursacht oder zur Malabsorption von anderen dietätischen Substraten führt [7]. Virale Enteropathogene führen im Falle einer Infektion zusätzlich zu einer Magenentleerungsstörung, wodurch die besondere Bedeutung von Übelkeit und Erbrechen als typische Symptome einer viralen Gastroenteritis erklärt werden können [7].

## 1. EINLEITUNG

---

Während die einzelnen Enteropathogene dabei in deren Virulenzfaktoren und Virulenzmechanismen voneinander abweichen, zeigt sich bezüglich der klinischen Ausprägung unabhängig von der Ätiologie oft eine Gleichartigkeit der Beschwerden [7]. Bis zu 80% der Fälle einer Reisediarrhö äußern sich in einer akuten wässrigen Durchfallsymptomatik, welche meistens von abdominellen Schmerzen/Krämpfen begleitet wird [7]. Oft kann es dadurch zu einer Dehydratation und einer intestinalen Malabsorption mit möglichen Spätfolgen kommen.

### 1.3. Ausgewählte Enteropathogene der Reisediarrhö

#### 1.3.1. Enterotoxigene *Escherichia coli*

Enterotoxigene *Escherichia coli* (ETEC) werden von einigen Autoren als die weltweit häufigsten Erreger der Reisediarrhö beschrieben [7, 25]. Weiterhin wird ETEC als der häufigste Auslöser für eine akute Durchfallerkrankung bei Kindern in Entwicklungsländern verantwortlich gemacht [26]. Es werden jährlich etwa 200 Millionen Durchfallerkrankungen und 380.000 Todesfälle durch ETEC beschrieben [26]. Als charakteristische klinische Beschwerden verursacht ETEC eine akute wässrige Diarrhö und kolikartige abdominelle Schmerzen.

Der Mensch stellt das Hauptreservoir von humanpathogenen ETEC-Stämmen dar. Die Transmission erfolgt hauptsächlich durch kontaminierte Lebensmittel und Trinkwasser. ETEC verfügen über spezielle Fimbrien, mit denen es ihnen möglich ist am Epithel von Enterozyten im Ileum zu adhären. An das luminale Darmepithel angeheftet führt ein zweiter Virulenzmechanismus, die Produktion von Enterotoxinen, zur Entstehung der Durchfallsymptomatik. ETEC sind in der Lage ein hitzelabiles Toxin (LT bzw. LT-ETEC) und ein hitzestabiles Toxin (ST bzw. ST-ETEC) zu produzieren. Auf DNA-Ebene weist das hitzelabile Toxin eine große Ähnlichkeit mit dem Cholera-Toxin auf und entfaltet seine

## 1. EINLEITUNG

---

Wirkung über die Aktivierung einer Adenylatzyklase in Darmepithelien, wohingegen das hitzestabile Toxin in eine heterogene Gruppe von kleineren Enterotoxinen eingeordnet werden kann, welche über eine Aktivierung der Guanylatzyklase wirken [27].

### 1.3.2. Enteroaggregative *Escherichia coli*

Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) sind mittlerweile als wichtige und weit verbreitete Ursache für eine Reisediarrhö bekannt. In einigen Studien werden sie sogar neben ETEC als eine der zwei häufigsten Ursachen für eine Reisediarrhö nachgewiesen [7, 15]. Weiterhin wird EAEC als Auslöser für eine chronische Durchfallerkrankung bei Kindern und bei immunsupprimierten Patienten in Entwicklungsländern verantwortlich gemacht [15, 21, 23]. In letzter Zeit deutet einiges darauf hin, dass EAEC auch unter gesunden Erwachsenen in entwickelten Ländern eine wesentliche Ursache einer persistierenden Diarrhö darstellt [20].

Das Hauptreservoir von EAEC stellt der Mensch dar. Durch kontaminiertes Trinkwasser erfolgt in den meisten Fällen die Übertragung. Das charakteristische durch EAEC ausgelöste Krankheitsbild äußert sich in einer wässrig, schleimigen Durchfallsymptomatik mit möglichen Begleitsymptomen von leichtem Fieber und mildem Erbrechen. In bis zu einem Drittel der Patienten mit einer Durchfallerkrankung durch EAEC können blutige Stuhlgänge beobachtet werden [20].

EAEC weist eine Reihe von unterschiedlichen Virulenzfaktoren, wie Adhäsine und Enterotoxine, sowie andere weniger bekannte Faktoren auf. Durch diese Virulenzfaktoren sind EAEC in der Lage an die intestinale Mukosa zu adhärieren, vornehmlich im Bereich des Kolons, wo sie einen mukoiden Biofilm bilden, um anschließend eine Sekretion von Enterotoxinen und Zytotoxinen auszulösen [20]. Der genaue Pathomechanismus, insbesondere im Zusammenhang mit einer chronischen Diarrhö, ist allerdings noch weitestgehend unklar [20, 28]. Insgesamt sind EAEC eine heterogene Gruppe von

## 1. EINLEITUNG

---

*Escherichia coli* Stämmen. Als Gemeinsamkeit zeigen sie phänotypisch eine aggregative Adhärenz an HEp-2 Zellen in der Zellkultur, welche in ihrem Aussehen einer sogenannten *stacked-brick* („gestapelte Mauersteine“) Formation ähnelt [20, 27].

### 1.3.3. Norovirus

Das Norovirus wird derzeit als die wichtigste nicht-bakterielle Ursache für eine akute Reisediarrhö beschrieben [7, 16]. Des Weiteren sind Noroviren sowohl in epidemischen als auch in sporadischen Fällen einer Durchfallerkrankung unter Erwachsenen in entwickelten Ländern als die häufigste Ursache bekannt [29]. Im Allgemeinen werden Noroviren für bis zu 85% bis 90% aller viralen Gastroenteritiden weltweit verantwortlich gemacht [16, 29, 30]. Sogar bis zu 7% aller Todesfälle in den USA, die mit einer Durchfallsymptomatik in Verbindung stehen, werden auf Noroviren zurückgeführt [31].

Das einzige bekannte Reservoir von Noroviren ist der Mensch. Die Übertragung des Viruspartikel erfolgt zum einen durch fäkal-oral Schmierinfektionen und zum anderen über die Aufnahme von virushaltigen Tröpfchen (Aerosole), die im Zuge des oft vorkommenden schwallartigen Erbrechens freigesetzt werden. Das Virus weist dabei eine hohe Infektiosität auf: Bereits etwa 10-100 Viruspartikel stellen die minimale Infektionsdosis dar. Die Inkubationszeiten belaufen sich auf etwa 6-48 Stunden. Als Leitsymptom einer Norovirusinfektion gilt eine plötzlich auftretende, wässrige Durchfallsymptomatik begleitet von Bauchkrämpfen, Übelkeit und schwallartigem Erbrechen. In einer Vielzahl der Fälle kommt es zusätzlich zum Auftreten eines ausgeprägten Krankheitsgefühls mit Kopfschmerzen, Myalgie und Abgeschlagenheit [32].

Das Norovirus ist gekennzeichnet durch eine hohe Genomvariabilität. Es existieren derzeit fünf verschiedene Genogruppen (Genogruppe I-V). Die Genogruppen I und II sind als die am häufigsten vorkommenden, humanpathogenen Genogruppen bekannt [33]. Noroviren der



## 1. EINLEITUNG

---

Genogruppe I und II können wiederum in mehr als 20 Genotypen differenziert werden. Jene genetische Variabilität ist in erster Linie in den RNA-Regionen, in denen die Polymerase und das Kapsid codiert sind, der Norovirusisolate zu finden. Mechanismen, wie das Ausbleiben einer Fehlerüberprüfung (*proof-reading*) der viralen RNA Polymerase oder intratypische und intertypische Rekombinationen, führen zu dieser hohen Rate an Mutationen [32, 34].

### 1.3.4. Weitere Enteropathogene

Als weitere wichtige bakterielle Enteropathogene, die eine Reisediarrhö verursachen, sind neben den aufgeführten *Escherichia coli*-Pathovaren *Campylobacter spp.*, *Shigella spp.* und *Salmonella spp.* zu nennen [7, 35]. Alle drei erwähnten, bakteriellen Gattungen sind weltweit verbreitet. Sie spielen sowohl in Entwicklungsländern als auch in entwickelten Ländern im Rahmen von intestinalen Infektionen eine führende Rolle. In Europa zeigen die Infektionen eine charakteristische Häufung in warmen Monaten [36-38]. Im Jahr 2013 wurden in Deutschland insgesamt 63.636 *Campylobacter*-Enteritiden übermittelt, was einer Inzidenz von 77,8 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner entspricht [39]. Fälle von Salmonellosen dagegen wurden im Jahr 2013 in Deutschland 18.986 gezählt, was einer Inzidenz von 23,2 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner entspricht [39]. An letzter Stelle in diesem Vergleich können die Shigellosen mit insgesamt 578 Krankheitsfällen in Deutschland im selben Jahr genannt werden [39].

Das Hauptreservoir von *Campylobacter spp.* und *Salmonella spp.* sind Tiere, wohingegen für *Shigella spp.* der Mensch das einzige relevante Reservoir darstellt. Die *Campylobacter*-Enteritis und die Salmonellose zählen zu den klassischen Lebensmittelinfektionen. Die Übertragung von Shigellen hingegen erfolgt fäkal-oral, vorwiegend durch den direkten Kontakt von Mensch zu Mensch. Das klinische Bild aller drei intestinalen Infektionen geht gewöhnlich mit einer akuten Enteritis in Form von wässriger Diarrhö einher. Häufig sind die Enteritiden von abdominellen Krämpfen/Schmerzen, allgemeinem Unwohlsein, Erbrechen,

## 1. EINLEITUNG

---

Fieber, Kopfschmerzen oder Myalgien begleitet. Bei schweren Verlaufsformen kann es besonders bei *Campylobacter*-Enteritiden und Shigellosen zu blutigen Stühlen kommen [36-38].

Als ein wichtiger Vertreter der parasitären Erreger, die ursächlich für eine Reisediarrhö sein können, kann *Gardia lamblia* genannt werden [13, 14]. Das Auftreten von Infektionen mit *Gardia lamblia* ist weltweit verbreitet, jedoch in warmen Ländern häufiger als in gemäßigten Klimazonen zu finden [40]. Im Jahr 2013 wurden in Deutschland 4.145 Erkrankungen von Giardiasis übermittelt, was einer Inzidenz von 5,1 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner entspricht [39]. Etwa zwei Drittel dieser nachgewiesenen Infektionen mit *Gardia lamblia* wurden in Deutschland selbst erworben [40]. Die übrigen *Giardia*-Infektionen werden bei Reiserückkehrern, insbesondere aus den Tropen, diagnostiziert, womit die Giardiasis die häufigste Protozoeninfektion bei Tropenrückkehrern in Deutschland darstellt. Es kann noch hinzugefügt werden, dass im Allgemeinen Kinder und jüngere Erwachsene häufiger als andere Altersgruppen erkranken [40].

Neben dem Menschen sind Rinder und Haustiere (Hunde) als Hauptreservoir zu nennen. Der Infektionsweg der *Gardia*-Zysten erfolgt auf der fäkal-oralen Route, weitestgehend über fäkal kontaminiertes Trinkwasser, kontaminierte Lebensmittel oder durch direkten Kontakt. Die Infektionen erstrecken sich über klinisch asymptomatische Verläufe bis hin zu über Jahre wiederkehrende Durchfälle (meistens schaumig-wässrig) und Oberbauchbeschwerden, Meteorismus, sowie Malabsorption mit ausgeprägtem Gewichtsverlust [40].

Als mögliche Ursache für eine Reisediarrhö, nimmt der einzellige Parasit *Blastocystis hominis* eine besondere Rolle ein. Während die Pathogenität des Enterogens bei Tieren nachgewiesen werden konnte, bleibt es noch immer unklar, ob *Blastocystis hominis* bei Menschen ein obligat pathogener Erreger für die Entstehung einer Durchfallsymptomatik ist. Die meisten kontrollierten Studien konnten keinen signifikanten Unterschied in der Prävalenz des Erregers oder den Symptomen zwischen der jeweiligen Fall- und Kontrollgruppe aufzeigen [41, 42].

## 1. EINLEITUNG

---

*Blastocystis hominis* ist weltweit verbreitet. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral. Infektionen sind weitaus häufiger in Entwicklungsländern als in entwickelten Ländern zu finden. In Entwicklungsländern werden Prävalenzen von 30% bis 50% für gesunde, asymptomatische Erwachsene beschrieben, wohingegen in entwickelten Regionen der Welt Prävalenzen von 1,5% bis 10% aufgeführt werden [41]. Reisende in tropische und weniger entwickelte Regionen scheinen ein erhöhtes Risiko für eine intestinale Infektion mit *Blastocystis hominis* zu haben. Eine Studie aus Nepal beispielsweise konnte eine Prävalenz von bis zu 30% unter Touristen und Auswanderern nachweisen [42]. Koinfektionen mit anderen Enteropathogenen sind häufig. Eine Infektion mit *Blastocystis hominis* ist demnach aufgrund des fäkal-oralen Übertragungsweges und der hohen Anzahl an Koinfektionen oft ein Indiz für schlechte hygienische Umstände. Es sollte stets bei einem Nachweis von *Blastocystis hominis* an andere intestinale Pathogene gedacht werden, die die Symptome des jeweiligen Patienten besser erklären könnten [41].

### 1.4. Stand aktueller Diagnostik der Reisediarrhö

Pathogene intestinaler Infektionen wurden über viele Jahre hinweg durch die Analyse von bakteriellen Zellkulturen und lichtmikroskopischen Untersuchungen, die vor allem zum Nachweis von Eizellen von Würmern und Parasiten, adulten Würmern oder Protozoen dienen, diagnostiziert. In der letzten Zeit haben sich allerdings in vielen Fällen molekularbiologische Nachweismethoden mit einer weitaus höheren Sensitivität und Spezifität hervorgehoben. Global gesehen können bezüglich der Diagnostik der Reisediarrhö keine einheitlichen Standards vorliegen, da es ein großes Spektrum von Enteropathogenen gibt, die in verschiedenen Regionen unterschiedlich häufig vorkommen. Des Weiteren schwanken die Ausstattung der Laboratorien und der Einsatz verschiedener diagnostischer Labormethoden in verschiedenen Ländern erheblich.

## 1. EINLEITUNG

---

### 1.4.1. Diagnostik bakterieller Enteropathogene

Die Isolation von Zellkulturen durch selektierte Nährböden (Nähragar) zeigt sich immer noch als eine außerordentlich wertvolle Methode zum Nachweis von bakteriellen Enteropathogenen (z.B. *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio* und *Yersinia spp.*). Zur Detektion von enteropathogenen *Escherichia coli* wurde allerdings bereits vor über 20 Jahren die Phänotypisierung, d.h. die Analyse des Verhaltens in der Zellkultur, wie beispielsweise die HEp-2 Adhärenz von EAEC, herangezogen. Dieses Verfahren wurde lange Zeit als der Goldstandard in der Diagnostik betrachtet [27, 43]. Für andere Pathovaren, so beispielsweise ETEC, stellte es sich als bedeutender heraus, andere für die Pathogenität verantwortliche Virulenzfaktoren, insbesondere die Toxine, und weniger die Zellkultur selbst zu identifizieren [11]. Im Anschluss wurde durch molekulare Methoden, wie die DNA-Hybridisierung und die Polymerase Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR), die Diagnostik enteropathogener *Escherichia coli* revolutioniert [27]. Mittlerweile haben Studien mehrfach gezeigt, dass die Etablierung des PCR-gestützten Nachweises eine höhere Sensitivität in der Pathogendetektion aufweist als die traditionellen Methoden und die DNA-Hybridisierung [11, 44]. Dadurch konnte die häufigere Anwendung von PCR-Methoden zeigen, dass ein größerer Anteil von Fällen einer Reisediarrhö durch enteropathogene *Escherichia coli* bedingt ist [7]. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass für den Nachweis von *Escherichia coli*-Pathovaren keine einheitlichen Standards vorliegen. In Bezug auf Deutschland wird lediglich die Empfehlung geäußert, den Nachweis molekularbiologisch zu erbringen [27].

### 1.4.2. Diagnostik viraler Enteropathogene

Darmpathogene Viren, wie auch das Norovirus, zeigen bisher kein Wachstum in Zellkulturen. Der erste Nachweis beispielsweise des Norovirus wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen erstmals im Jahre 1972 erbracht. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene diagnostische Methoden zum Nachweis von Noroviren im Stuhl entwickelt: Für die

## 1. EINLEITUNG

---

Routinediagnostik stehen zwei kommerzielle Antigen-ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) zum Nachweis viraler Proteine zur Verfügung [32]. In aktuellen Studien wird die *reverse transcription* PCR (RT-PCR) als sensitivere Nachweismethode beschrieben [34]. Die RT-PCR gilt mittlerweile als Goldstandard in der Diagnostik des Norovirus [29, 45].

### 1.4.3. Diagnostik parasitärer Enteropathogene

Zur Detektion von parasitären Enteropathogenen werden weiterhin lichtmikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Die Lichtmikroskopie ist eine relativ kostengünstige Nachweismethode. Die Sensitivität jener Untersuchungsmethode hängt allerdings deutlich von der Anzahl der Erreger, von der Frische der Stuhlproben und von der Erfahrung des Untersuchers ab [11]. Aufgrund dessen sind mikroskopische Untersuchungen für einige Protozoen (zum Beispiel *Giardia lamblia* und *Cryptosporidium spp.*) durch sensitivere und spezifischere Methoden, wie ELISA-Tests und PCR-Techniken, in vielen Laboratorien ersetzt worden, auch wenn sie noch nicht als Routinediagnostik angesehen werden können [11].

### 1.4.4. Ausblick

Trotz der hohen Sensitivität und Spezifität molekularbiologischer Methoden ist deren Anwendung – unabhängig vom Enteropathogen – meist auf gut ausgestattete Laboratorien in den entwickelten Ländern beschränkt. Es sollte das Ziel sein, auch Laboratorien in den Entwicklungsländern solche Methoden zu ermöglichen, da gerade dort das Risiko einer Diarrhö erhöht ist.

## **2. PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG**

---

### **2. PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG**

Klinische Daten über das Spektrum und die Relevanz von Enteropathogenen bei international Reisenden mit und ohne Durchfallsymptomatik sind begrenzt. In den meisten Fällen sind lediglich Daten verfügbar, die auf spezifische Destinationen oder Reisegruppen oder Epidemien limitiert sind. In dieser kontrollierten Studie wurden klinische Daten von weltweit reisenden Patienten mit und ohne Durchfallsymptomatik, sowie die Ergebnisse spezifischer laborchemischer Untersuchungen zum Nachweis bekannter Enteropathogene, die ursächlich für eine Reisediarrhö sind, analysiert. Dabei wurde folgenden Schwerpunkten nachgegangen:

- Prävalenz von bakteriellen, viralen und parasitären Enteropathogenen unter Patienten mit Durchfallsymptomatik
- Vergleich mit einer Kontrollgruppe
- Fokus auf Norovirus (Genogruppe I und II), EAEC und LT-/ST-EPEC, welche jeweils mit einer spezifischen und sensitiven Nachweismethode diagnostiziert wurden
- Aussagekraft von Durchfalldauer in Korrelation zum bestimmten Enteropathogen
- Risiko einer intestinalen Infektion in Korrelation zum Reiseziel

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

---

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1. Studiendesign**

##### **3.1.1. Studienpopulation**

In der dieser vorliegenden Dissertation zugrunde liegenden Studie wurden 170 Patienten mit und ohne Durchfallsymptomatik, die sich im Zeitraum von August 2006 bis November 2009 in der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin (AITM) der Ludwig-Maximilians-Universität München vorgestellt haben, eingeschlossen. Alle Patienten haben sich innerhalb von 15 Tagen nach Reiserückkehr vorgestellt.

Folgende Daten von den eingeschlossenen Patienten wurden zusammengestellt und ausgewertet:

- Geschlecht des Patienten
- Alter
- Reiseziel, Reisedauer, Reiseart
- Dauer der Durchfallsymptomatik
- Begleitsymptome bei Patienten mit Durchfallsymptomatik

Der Studie liegt eine Zustimmung durch die zuständige Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München zu Grunde. Klinische Daten, sowie Probenentnahme und -aufbereitung wurden nur von Patienten mit abgegebener schriftlicher Einverständniserklärung bzw. nach schriftlicher Einverständniserklärung des gesetzlichen Vertreters bei Minderjährigen, erhoben.

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

---

#### **3.1.2. Fall- und Kontrollgruppe**

Die Studienpopulation wurde eingeteilt in zwei Untersuchungsgruppen. Es wurde eine Fallgruppe und eine Kontrollgruppe festgelegt.

Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge innerhalb von 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominelle Schmerzen) berichteten.

Die Kontrollgruppe wurde definiert durch Patienten mit jeglicher Art von Beschwerden (z.B. Fieber, Hautveränderungen oder Lymphknotenschwellung) außer typischen Symptomen einer intestinalen Infektion. Die Kontrollgruppe wurde dabei zufällig unter den Patienten zusammengestellt, die sich in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München im Zeitraum von August 2006 bis November 2009 vorgestellt haben.

#### **3.2. Probennahme und Aufbereitung**

Von den 170 Patienten, die sich im Zeitraum von August 2006 bis November 2009 in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München vorgestellt haben, wurde eine Stuhlprobe am Tag der Vorstellung gesammelt. Von jeder Stuhlprobe wurden jeweils zwei zusätzliche Aufbewahrungsgefäße angelegt. Im Sinne der Fallgruppe wurden neben oben stehenden Kriterien nur solche Proben akzeptiert, bei denen die entsprechende Probe die Form des Aufbewahrungsgefäßes angenommen hatte. Eines der beiden zusätzlich angelegten Aufbewahrungsgefäße der jeweiligen Stuhlprobe wurde am Entnahmetag in einer 20%igen Suspension in 1 ml DNA-freiem Wasser aufbereitet. Beide Aufbewahrungsgefäße wurden sodann unverzüglich bis zum Tag der Extraktion bei -80°C asserviert.



### 3. MATERIAL UND METHODEN

---

Die ursprüngliche Stuhlprobe der Patienten wurde direkt am Vorstellungstag im Rahmen der Routine-Stuhldiagnostik der AITM standardisiert auf bakterielle (u.a. *Campylobacter jejuni*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*) und parasitäre (u.a. *Blastocystis hominis*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.*) Enteropathogene untersucht.

Die Sammlung der Stuhlproben wurde blind angelegt. Zum Zeitpunkt der Asservation war weder die Anamnese (Symptomatik) des Patienten, eine eventuelle Durchfalldauer noch Reiseziel, Reisedauer oder Reiseart bekannt. Für die spätere Datenauswertung wurden lediglich der Patientennamen, das Geschlecht, das Patientenalter und eine zugewiesene Labornummer vermerkt.

#### 3.3. Molekularbiologische Labormethoden

##### 3.3.1. RNA- und DNA-Extraktion

Die verdünnte Stuhlsuspension in einem der beiden Aufbewahrungsgefäße wurde zur RNA-Extraktion herangezogen. Die Probe wurde dabei zunächst für 10 Minuten bei 3.500g zentrifugiert. Die virale RNA wurde danach aus 140 µl des Überstandes mithilfe des QIAamp viral RNA mini kit (Qiagen; Hilden, Deutschland) extrahiert [29, 46-48]. Dabei wurden ausschließlich die Reagenzien des Extraktionskits genutzt und gemäß der Anleitung des Herstellers vorgegangen. Im Anschluss wurde die extrahierte RNA bis zur Durchführung der laborchemischen Nachweismethoden bei -80 C° gelagert. Alle Schritte der Extraktionskette wurden in den Laborräumen der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Das andere Aufbewahrungsgefäß der jeweiligen Stuhlprobe wurde zur DNA-Extraktion herangezogen. Dabei wurde DNA aller 170 Stuhlproben mithilfe des QIAamp DNA stool mini kit (Qiagen; Hilden, Deutschland) extrahiert [49, 50]. Auch hier wurden ausschließlich

### 3. MATERIAL UND METHODEN

---

die Reagenzien des Extraktionskits genutzt und gemäß der Anleitung des Herstellers vorgegangen. Im Anschluss wurde die extrahierte DNA bis zur Durchführung der Polymerase Kettenreaktion bei -20 C° gelagert. Alle Schritte der Extraktion wurden wiederum in den Laborräumen der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

#### 3.3.2. Nachweismethoden der einzelnen Pathogene

##### 3.3.2.1. Genamplifikationsverfahren für Norovirus

Für den Nachweis von Noroviren der Genogruppen I und II wurde die extrahierte RNA der jeweiligen Stuhlprobe mit der sogenannten *reverse transcription loop-mediated isothermal amplification* (RT-LAMP) Methode, die von Fukuda et al. entwickelt wurde, untersucht [45, 48, 51]. Die RT-LAMP-Methode basiert auf einer Reaktion, wobei Primer an Sequenzen konservierter Gene [52] innerhalb der genomischen RNA der jeweiligen Norovirus-Genogruppe binden. Bei Vorliegen von Norovirus-RNA kommt es dadurch zu einer Genamplifikation. Mit Verwendung eines speziell hierfür konzipierten Loopamp Fluoreszenz-Detektionsreagenz konnten alle Schritte, von der cDNA-Synthese bis zur Amplifikation und visuellen Fluoreszenzdetektion in Echtzeit (Real-Time), innerhalb eines Reaktionsgefäßes in einem LightCycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) durchgeführt werden. Auf die Durchführung einer Elektrophorese zur Detektion konnte somit verzichtet werden.

Unter Verwendung der Reagenzien eines sogenannten Norovirus G I/G II Detection Kit (Eicken, Tokyo, Japan) wurde für die jeweilige Probe ein RT-LAMP Mastermix von 10 µl wie folgt zusammengestellt und auf Reaktionsröhrchen verteilt: 5,0 µl 2xReaktionsmix, 1,2 µl destilliertes Wasser, 1,0 µl Primermix (sogenannter NVG1 Primermix oder NVG2 Primermix), 0,4 µl Fluoreszenz-Detektionsreagenz, 0,4 µl Enzymmix (Bacillus stearothermophilus DNA Polymerase und Avian Myeloblastosis Virus reverse Transcriptase) und 2,0 µl extrahierte Stuhl-RNA. Das Reaktionsröhrchen wurde anschließend bei 63 C° für

### 3. MATERIAL UND METHODEN

---

60 Minuten zur Amplifikationsreaktion inkubiert und danach zur Enzyminaktivierung für 5 Minuten auf 80 C° erhitzt. Je Probe erfolgten zwei separate PCR-Untersuchungsgänge für Norovirus Genogruppe I und Genogruppe II mit dem jeweilig unterschiedlichen, oben erwähnten Primermix.

In allen durchgeführten Untersuchungsgängen wurde eine 10%ig verdünnte Positivkontrolle von Norovirus Genogruppe I bzw. Norovirus Genogruppe II, die Bestandteil des Detection Kit waren, verwendet. Als Negativkontrolle diente destilliertes Wasser. Zusätzlich wurden interne Positivkontrollen in alle PCR-Reaktionen zum Ausschluss einer Reaktionsinhibition eingeschlossen. Alle Schritte der molekularbiologischen Untersuchung wurden in den Laborräumen der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

#### **3.3.2.2. Konventionelle Polymerase Kettenreaktion für *Escherichia coli*-Pathovare**

Zur Detektion von ETEC und EAEC wurde je eine PCR in unterschiedlichen Untersuchungsgängen mit jeweils zwei sequenzspezifischen Primern zum Nachweis von bekannten Genabschnitten durchgeführt. Die Zielgene der unterschiedlichen *Escherichia coli*-Pathovare, sowie sequenzspezifische Primer wurden bereits in vorhergehenden Studien getestet und beschrieben [50, 53]. Das LT-Gen und das ST-Gen wurden zum Nachweis von LT- und ST-ETEC herangezogen und das CVD432-Gen für den Nachweis von EAEC verwendet. Die jeweiligen Primersequenzen und deren Konzentrationen sind in Tabelle 1 aufgeführt [53].

### 3. MATERIAL UND METHODEN

**Tabelle 1:**

Verwendete PCR-Primer und deren Konzentration.

Abgeleitet von einer Tabelle aus [53].

Primer Benennung	Primer (5' nach 3')	Zielgen	Amplikon (bp)	Primer Konzentration (pmol)
EAEC1	CTGGCGAAAGACTGTATCAT	CVD432	630	5
EAEC2	CAATGTATAGAAATCCGCTGTT			
LTf	GGCGACAGATTATACCGTGC	LT Gen	450	5
LTr	CGGTCTCTATATTCCTGTT			
STf	ATTTTMTTCTGTATRTCTT	ST Gen	190	6,50
STr	CACCCGGTACARGCAGGATT			

Der Mastermix für die ETEC-PCR wurde auf 20 µl festgelegt und wie folgt zusammengestellt: 8,8 µl destilliertes Wasser, 2,0 µl 10xPCR Gold Buffer, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM jedes Desoxynukleosidtriphosphates, 0,025 U/µl AmpliTaqGold DNA Polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 2,0 µl extrahierte Stuhl-DNA und das jeweilige Primerpaar in entsprechender Konzentration (Tabelle 1).

Der Mastermix für die EAEC-PCR wurde auf 50 µl festgelegt und wie folgt zusammengestellt: 34,2 µl destilliertes Wasser, 5,0 µl 10xPCR Gold Buffer, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM jedes Desoxynukleosidtriphosphates, 0,025 U/µl AmpliTaqGold DNA Polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 2,0 µl extrahierte Stuhl-DNA und das Primerpaar in entsprechender Konzentration (Tabelle 1).

Die Reaktionsbedingungen für den ETEC-Ansatz bestanden aus einer anfänglichen 5 Minuten langen Erhitzung auf 95 C°, aus der Amplifikation (Denaturierungs-, Annealing- und Extensionsphase) in Form von 40 Zyklen je 95 C° für 45 Sekunden, 50 C° für 1 Minute und 72 C° für 1 Minute; abschließend folgte zusätzlich eine Extensionphase bei 72 C° für 7 Minuten. Für den EAEC-Ansatz wurden folgende Reaktionsbedingungen herausgearbeitet:

### 3. MATERIAL UND METHODEN

---

eine anfängliche Erhitzung auf 95 C° für 5 Minuten, zur Amplifikation wiederum 40 Zyklen in Form von je 40 Sekunden bei 95 C°, 1 Minute bei 58 C° und 2 Minuten bei 72 C°; abschließend folgte auch für diesen Ansatz eine zusätzliche Extensionsphase für 7 Minuten bei 72 C° [53].

Im Anschluss wurde eine Elektrophorese in einem 2%igem Agarosegel durchgeführt und darin das Amplifikationsprodukt (10 µl) mittels Ethidiumbromid sichtbar gemacht. In allen Untersuchungsgängen diente extrahierte DNA der Referenzstämme ETEC H10407 bzw. EAEC 06-06765 als Positivkontrollen [53] und destilliertes Wasser als Negativkontrollen. Die Referenzstämme wurden vom Robert-Koch-Institut zur Verfügung gestellt. Weiterhin wurden interne Positivkontrollen mitgeführt, um eine eventuelle Inhibition der PCR auszuschließen. Erneut wurden alle Schritte der PCR-Durchführung in den Laborräumen der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München vollzogen.

#### 3.4. Statistische Analysemethoden

Statistische Verteilungstests (Chi-Quadrat-Test) und t-Tests als parametrische Testverfahren wurden ausgeführt mittels Stata Software, Version 9.0 (Stata Corporation, College Station, TX, USA), und EpiInfo, Version 3.3.2. (Centers for Disease Control and Prevention, CDC, Atlanta, GA, USA). Signifikante Unterschiede wurden definiert als Signifikanzwerte (*P*-Wert bzw. *p*-value) unter 0,05 oder als Übereinstimmung von mindestens 95% CIs des Vergleichsanteils.

## **4. ERGEBNISSE**

---

### **4. ERGEBNISSE**

#### **4.1. Analysierte Daten der Studienpopulation**

Während des Zeitraums der Studie wurden in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München insgesamt Proben von 170 Patienten nach deren Reise vornehmlich in subtropische und tropische Länder gesammelt. Davon wurden 114 (67,1%) Patienten der Fallgruppe und 56 (32,9%) Patienten der Kontrollgruppe zugeordnet. Es befanden sich innerhalb der Fallgruppe mehr weibliche Patienten (56,1%) als innerhalb der Kontrollgruppe (44,6%). Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant ( $P$  0,16). Für die Fallgruppe konnte eine Altersausdehnung von 2-80 Jahren festgestellt werden. Der Mittelwert lag bei 37,7 Jahren. Die am stärksten vertretene Altersgruppe der Fallgruppe (73,7%) war dabei zwischen 20-49 Jahren. Die Altersverteilung der Kontrollgruppe war insgesamt nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 2).

## 4. ERGEBNISSE

**Tabelle 2:**

Analysierte Daten der Studienpopulation.

Variable:		Fallgruppe <sup>a</sup> (%)	Kontrollgruppe <sup>b</sup> (%)	P
<b>Fall- bzw. Kontrollgruppe</b>		114	56	N.A.
Ratio		2,04	1,00	N.A.
<b>Geschlecht</b>	Männlich	50 (43,9)	31 (55,4)	0,16
	Weiblich	64 (56,1)	25 (44,6)	0,16
<b>Alter</b>	Intervall [Jahre]	2 – 80	1 – 66	N.A.
	Mittel [Jahre]	37,7	35,1	N.A.
	Median [Jahre]	35	34	N.A.
<b>Altersgruppen</b>	0 – 9 Jahre	5 (4,4)	2 (3,6)	0,80
	10 – 19 Jahre	2 (1,8)	0	0,32
	20 – 29 Jahre	30 (26,3)	19 (33,9)	0,30
	30 – 39 Jahre	33 (28,9)	16 (28,6)	0,96
	40 – 49 Jahre	21 (18,4)	11 (19,6)	0,85
	50 – 59 Jahre	7 (6,1)	4 (7,1)	0,80
	60 – 69 Jahre	12 (10,5)	4 (7,1)	0,48
	70 – 80 Jahre	4 (3,5)	0	0,16
<b>Reiseziel</b>	Asien	58 (50,9)	31 (55,4)	0,58
	Afrika	44 (38,6)	15 (26,8)	0,13
	Lateinamerika	8 (7,0)	10 (17,9)	0,03*
	Europa	3 (2,6)	0	0,22
	Around the world	1 (0,9)	0	0,48
<b>Reisedauer</b>	1 – 7 Tage	15 (13,2)	5 (8,9)	0,42
	8 – 30 Tage	71 (62,3)	30 (53,6)	0,28
	31 – 90 Tage	17 (14,9)	12 (21,4)	0,29
	>90 Tage	11 (9,6)	9 (16,1)	0,22
<b>Reiseart</b>	Geschäftsreise	44 (38,6)	18 (32,1)	0,41
	Abenteuerreise	27 (23,7)	11 (19,6)	0,55
	All-inclusive Reise	19 (16,7)	11 (19,6)	0,63
	BVF <sup>c</sup>	15 (13,2)	7 (12,5)	0,90
	Entwicklungsarbeit	6 (5,3)	2 (3,6)	0,63
	Studentenaustausch	2 (1,8)	3 (5,4)	0,19
	Immigration	1 (0,9)	1 (1,8)	0,61
	Andere / unbekannt	0	3 (5,4)	0,01*

N.A. = nicht anwendbar.

\*Signifikante P-Werte (*p*-values): definiert als  $P < 0,05$ .

<sup>a</sup> Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge in 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominale Schmerzen) berichteten.

<sup>b</sup> Die Kontrollgruppe wurde definiert durch Patienten mit jeglicher Art von Beschwerden (z.B. Fieber, Hautveränderungen oder Lymphknotenschwellung) außer typischen Symptomen einer intestinalen Infektion (siehe oben). Die Kontrollgruppe wurde dabei zufällig unter den Patienten zusammengestellt, die sich in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München im Zeitraum von August 2006 bis November 2009 vorgestellt haben.

<sup>c</sup> BVF = Besuch von Verwandten und Freunden.

## **4. ERGEBNISSE**

---

### **4.2.      Analysierte Daten der Reiseanamnese**

Das meist frequentierte Reiseziel sowohl der Fall- als auch der Kontrollgruppe war Asien (50,9% und 55,4%). Mit abnehmender Häufigkeit der jeweiligen Reisedestination präsentierten sich – ebenfalls für beide Studiengruppen gleich – Afrika (38,6% und 26,8%), Lateinamerika (7,0% und 17,9%) und abschließend Europa (2,6% und 0%). Ein Patient der Fallgruppe (0,9%) reiste um die Welt (Around the world Trip). Im Vergleich war innerhalb der Kontrollgruppe nur die Anzahl der Reisenden nach Lateinamerika signifikant höher ( $P = 0,03$ ).

Die Mehrzahl der Patienten der Fallgruppe (62,3%) und der Kontrollgruppe (53,6%) reisten für eine Dauer von 8-30 Tagen. Die am häufigsten vertretenen Reisearten, sowohl der Fall- als auch der Kontrollgruppe, waren eine Dienstreise (38,6% und 32,1%) oder Abenteuerreise (23,7% und 19,6%). Hinsichtlich der Reisedauer und der Reiseart konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Fall- und der Kontrollgruppe festgestellt werden (Tabelle 2).

### **4.3.      Klinische Daten der Fallgruppe**

Von 109 (95,6%) der 114 Patienten der Fallgruppe konnte die Dauer der Durchfallsymptomatik – Beginn der Diarrhö bis zum Zeitpunkt der Abgabe der Stuhlprobe – eruiert werden. Von diesen berichteten 31 (28,4%) Patienten für eine Dauer von 1-3 Tagen an der Diarrhö zu leiden, 53 (48,6%) Patienten hätten die Durchfallsymptomatik seit 4-14 Tagen und 25 (22,9%) der Patienten würden länger als 14 Tage (bis zu 180 Tage) an der Diarrhö leiden. Neben der Diarrhö berichteten die Patienten der Fallgruppe über weitere Symptome: 46 (40,4%) Patienten gaben zusätzlich Übelkeit an, 25 (21,9%) Patienten gaben jeweils abdominelle Schmerzen und Flatulenz an und 14 (12,3%) Patienten berichteten über Erbrechen.



## 4. ERGEBNISSE

---

### 4.4. Laborergebnisse für Norovirus und *Escherichia coli*-Pathovare

In der Fallgruppe konnten 12 Patienten (10,5%) positiv auf Norovirus getestet werden. Hierunter waren 3 Patienten (2,6%) positiv auf Norovirus Genogruppe I und 10 Patienten (8,8%) positiv auf Norovirus Genogruppe II, wobei bei einem Patienten eine Koinfektion beider Genogruppen vorlag. Des Weiteren konnten in der Fallgruppe bei 50 Patienten (45%) ein positiver Nachweis von EAEC, bei 22 Patienten (20%) von LT-ETEC und bei 18 Patienten (16,2%) von ST-ETEC erbracht werden. Hierunter lagen 11 Koinfektionen für EAEC und LT-ETEC oder EAEC und ST-ETEC vor, wobei davon 4 Patienten eine Koinfektion von EAEC, LT-ETEC und ST-ETEC aufwiesen. Darüber hinaus konnten 7 Koinfektionen für LT-ETEC und ST-ETEC festgestellt werden. Eine Koinfektion von Norovirus und einem der getesteten *Escherichia coli*-Pathovare konnte in 9 Fällen der Fallgruppe gefunden werden (Tabelle 3).

In der Kontrollgruppe wurde jeweils ein Patient (1,8%) positiv auf Norovirus Genogruppe I sowie auf Norovirus Genogruppe II getestet, ohne dass dabei eine Koinfektion vorlag. Weiterhin konnte in der Kontrollgruppe ein positiver Nachweis von EAEC bei 9 Patienten (16,4%), von LT-ETEC bei 12 Patienten (21,8%) und von ST-ETEC bei 2 Patienten (3,6%) erbracht werden. Hierunter waren 3 Patienten, bei denen eine Koinfektion mit EAEC und LT-ETEC vorlag, und ein Patient, bei dem jeweils eine Koinfektion mit EAEC und ST-ETEC bzw. LT-ETEC und ST-ETEC vorlag. Eine Koinfektion von einem *Escherichia coli*-Pathovar und Norovirus in der Kontrollgruppe konnte in 2 Fällen gefunden werden (Tabelle 3).

Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Prävalenz zwischen Fall- und Kontrollgruppe ergab sich lediglich für EAEC ( $P < 0,01$ ) und ST-ETEC ( $P 0,02$ ) (Tabelle 3). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in den prozentualen Anteilen von Norovirus, EAEC, LT-ETEC und ST-ETEC im Bezug auf die Durchfalldauer (akute oder chronische Diarrhö), die für 109 Patienten der Fallgruppe klinisch erhoben werden konnte (Tabelle 4).

## 4. ERGEBNISSE

---

### 4.5. Prävalenz anderer Enteropathogene

Die Prävalenz anderer potentieller Enteropathogene für Durchfallerkrankungen zeigte sich innerhalb der Fallgruppe wie folgt: *Blastocystis hominis* 14,9%, *Campylobacter jejuni* 12,3%, *Giardia lamblia* 6,1%, *Shigella spp.* 6,1%, und *Salmonella spp.*, *Cryptosporidium spp.* sowie *Cyclospora cayetanensis* jeweils 2,6%. In der Kontrollgruppe dagegen konnte ein positiver Nachweis folgender Enteropathogene gefunden werden: *Blastocystis hominis* 3,6%, *Giardia lamblia* 5,4% und *Salmonella spp.* 5,4%. Ein signifikanter Unterschied konnte dabei hinsichtlich der Prävalenz zwischen Fall- und Kontrollgruppe ausschließlich für *Blastocystis hominis* ( $P = 0,03$ ) und *Campylobacter jejuni* ( $P < 0,01$ ) festgestellt werden (Tabelle 3).

In der Fallgruppe konnten insgesamt 30 Stuhlproben (26,3%) positiv auf Protozoen und neben dem Nachweis eines *Escherichia coli*-Pathovars insgesamt 24 Stuhlproben (21,1%) positiv auf ein Bakterium getestet werden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte sich hier die Prävalenz von 8,9% für Protozoen (5 positive Stuhlproben) und 5,4% für Bakterien (3 positive Stuhlproben) signifikant geringer ( $P < 0,01$ ) (Tabelle 3,  $P$ -Wert allerdings in Tabelle 3 nicht enthalten).

## 4. ERGEBNISSE

**Tabelle 3:**

Vergleich der Prävalenzen der untersuchten Enteropathogene von Fall- und Kontrollgruppe (Es werden lediglich Pathogene, die mindestens in 3 Stuhlproben der Fall- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden konnten, hier dargestellt<sup>a</sup>).

Variable:	Fallgruppe <sup>b</sup> (%)	Kontrollgruppe <sup>c</sup> (%)	P
<i>Escherichia coli</i> : EAEC <sup>d</sup>			
Positiv	50 (45,0)	9 (16,4)	<0,01*
Negativ	61 (55,0)	46 (83,6)	-
<i>Escherichia coli</i> : LT-ETEC <sup>d</sup>			
Positiv	22 (20,0)	12 (21,8)	0,79
Negativ	88 (80,0)	43 (78,2)	-
<i>Escherichia coli</i> : ST-ETEC <sup>d</sup>			
Positiv	18 (16,2)	2 (3,6)	0,02*
Negativ	93 (83,8)	53 (96,4)	-
<i>Blastocystis hominis</i>			
Positiv	17 (14,9)	2 (3,6)	0,03*
Negativ	97 (85,1)	54 (96,4)	-
<i>Campylobacter jejuni</i>			
Positiv	14 (12,3)	0	<0,01*
Negativ	100 (87,7)	56 (100)	-
Norovirus (Genogruppe I und II)			
Positiv	12 (10,5)	2 (3,6)	0,12
Negativ	102 (89,5)	54 (96,4)	-
<i>Giardia lamblia</i>			
Positiv	7 (6,1)	3 (5,4)	0,84
Negativ	107 (93,9)	53 (94,6)	-
<i>Shigella spp.</i>			
Positiv	7 (6,1)	0	0,06
Negativ	107 (93,9)	56 (100)	-
<i>Salmonella spp.</i>			
Positiv	3 (2,6)	3 (5,4)	0,37
Negativ	111 (97,4)	53 (94,6)	-
<i>Cryptosporidium spp.</i>			
Positiv	3 (2,6)	0	0,22
Negativ	111 (97,4)	56 (100)	-
<i>Cyclospora cayatanensis</i>			
Positiv	3 (2,6)	0	0,22
Negativ	111 (97,4)	56 (100)	-

\*Signifikante P-Werte (p-values): definiert als  $P < 0,05$ .

<sup>a</sup> Innerhalb der Fallgruppe wurde in jeweils einer Stuhlprobe der Nachweis von *Isospora belli*, *Dientamoeba fragilis* und *Schistosoma mansoni* erbracht. Innerhalb der Kontrollgruppe war jeweils eine Stuhlprobe positiv für *Schistosoma mansoni* und *Trichuris trichiura*.

<sup>b</sup> Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge in 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominelle Schmerzen) berichteten.

<sup>c</sup> Die Kontrollgruppe wurde definiert durch Patienten mit jeglicher Art von Beschwerden (z.B. Fieber, Hautveränderungen oder Lymphknotenschwellung) außer typischen Symptomen einer intestinalen Infektion (siehe oben). Die Kontrollgruppe wurde dabei zufällig unter den Patienten zusammengestellt, die sich in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München im Zeitraum von August 2006 bis November 2009 vorgestellt haben.

<sup>d</sup> PCR-Ergebnisse konnten nicht ausgewertet werden für: 3 Stuhlproben der Fallgruppe und 1 Stuhlprobe der Kontrollgruppe bei der EAEC-PCR, 4 Stuhlproben der Fallgruppe und 1 Stuhlprobe der Kontrollgruppe bei der LT-ETEC-PCR und 3 Stuhlproben der Fallgruppe und 1 Stuhlprobe der Kontrollgruppe bei der ST-ETEC-PCR.

## 4. ERGEBNISSE

**Tabelle 4:**

Verteilung nachgewiesener Enteropathogene (Norovirus, EAEC, LT-ETEC und ST-ETEC) in Bezug auf die Dauer der Durchfallsymptomatik der 114 Patienten der Fallgruppe<sup>a</sup> (akute Diarrhö: Dauer der Durchfallsymptomatik<sup>b</sup> ≤ 14 Tage, chronische Diarrhö: Dauer der Durchfallsymptomatik<sup>b</sup> > 14 Tage).

Variable:	Norovirus (%)	EAEC (%)	LT-ETEC (%)	ST-ETEC (%)	Anzahl der Infektionen (%)	Fallgruppe <sup>a</sup> (%)
0–14 Tage <sup>c</sup>	9 (75,0)	36 (75,0)	15 (71,4)	15 (88,2)	75 (76,5)	84 (77,1)
15–180 Tage <sup>c</sup>	3 (25,0)	12 (25,0)	6 (28,6)	2 (11,8)	23 (23,5)	25 (22,9)
0–180 Tage	12 (100)	48 (100)	21 (100)	17 (100)	98 (100)	109 (100)
<i>P</i> -Wert*	0,89	0,73	0,54	0,21	-	-
0–180 Tage	12	48	21	17	98	109
Dauer nicht bekannt	0	2	1	1	4	5
Total	12	50	22	18	102	114

\*Signifikante *P*-Werte (*p*-values): definiert als *P* < 0,05.

<sup>a</sup> Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge innerhalb von 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominelle Schmerzen) berichteten.

<sup>b</sup> Dauer der Durchfallsymptomatik: Zeitspanne zwischen dem Beginn der Durchfallsymptomatik und Vorstellung in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München.

<sup>c</sup> Eine Durchfallsymptomatik von 14 Tagen und weniger wird als akut bezeichnet, wohingegen eine Durchfallsymptomatik von mehr als 14 Tagen als chronisch bezeichnet wird. Das Ende der Durchfallsymptomatik ist nicht bekannt.

### 4.6. Koinfektionen

Innerhalb der Fallgruppe wurde in 4,4% der Fälle (5 von 114) kein Erreger detektiert, in 35,1% der Fälle (40 von 114) konnte eine Infektion mit einem Pathogen dokumentiert werden und in 60,5% der Fälle (69 von 114) konnte eine Koinfektion von zwei bis zu fünf potentiellen Enteropathogenen, die ursächlich für die Reisediarrhö sein können, festgestellt werden. Dabei konnten in 39 der 114 Stuhlproben (34,2%) zwei Pathogene, in 22 der 114 Stuhlproben (19,3%) drei Pathogene, in 7 der 114 Stuhlproben (6,1%) vier Pathogene und in einer der 114 Stuhlproben (0,9%) fünf Pathogene gefunden werden. Unter den 69 Fällen, in denen eine Koinfektion nachgewiesen werden konnte, wurde in 20 Stuhlproben (29,0%) der

## 4. ERGEBNISSE

---

Nachweis von Protozoen und in 11 Stuhlproben (15,9%) der Nachweis eines anderen Bakteriums als die getesteten *Escherichia coli*-Pathovare erbracht, die potentiell auslösenden Enteropathogene zu sein.

Innerhalb der Kontrollgruppe wurde in 55,4% der Stuhlproben (31 von 56) kein Enteropathogen nachgewiesen, in 32,1% der Stuhlproben (18 von 56) wurde ein Pathogen detektiert und in 12,5% der Stuhlproben (7 von 56) konnte eine Koinfektion mit zwei oder drei potentiell ursächlichen Enteropathogenen für eine Durchfallerkrankung festgestellt werden. Bezüglich der Koinfektionen konnten in 5 Fällen (insgesamt 5 von 56; 8,9%) zwei Pathogene nachgewiesen werden und in 2 Stuhlproben (insgesamt 2 von 56; 3,6%) drei Pathogene gefunden werden. Unter diesen 7 Fällen mit einer Koinfektion der Kontrollgruppe wurden in 2 Stuhlproben (28,6%) Protozoen und in 3 Stuhlproben (42,9%) andere Bakterien als die getesteten *Escherichia coli*-Pathovare als potentiell auslösende Enteropathogene nachgewiesen.

### 4.7. Relatives Risiko der Reisenden

Das Risiko für Reisende aus Deutschland, die nach Zentralamerika reisen, eine intestinale Infektion mit Norovirus (Genogruppe I und II) oder EAEC oder LT-/ST-ETEC zu erwerben, wurde als Referenzwert von 1,00 (relatives Risiko) herangezogen. Des Weiteren diente zur Ermittlung des relativen Risikos (RR) die offizielle Anzahl an Flugpassagieren von Deutschland in tropische und subtropische Regionen in Asien, Afrika und Lateinamerika im Jahre 2008: 12.274.352 (Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Deutschland).

Das höchste RR für eine intestinale Infektion mit Norovirus oder einem der getesteten *Escherichia coli*-Pathovare unter der Studienpopulation wurde für Reiserückkehrer aus Westafrika (RR 4,14), Ostafrika (RR 3,27), Südasien (RR 2,58) und Zentralamerika (RR 1,00

## 4. ERGEBNISSE

als Referenzwert) gefunden. In Bezug auf die Anzahl der Flugpassagiere war Afrika insgesamt der Kontinent mit dem höchsten Risiko (RR 0,80) für eine Infektion mit Norovirus oder einem *Escherichia coli*-Pathovar (Tabelle 5a und 5b).

**Tabelle 5a:**

Reiseziele der 114 Patienten der Fallgruppe<sup>a</sup> aufgeteilt auf die positiven Laborergebnisse für EAEC, LT-ETEC, ST-ETEC und Norovirus Genogruppe I und Genogruppe II.

Reiseziel	Fallgruppe <sup>a</sup>				
Region	Norovirus (%)	EAEC (%)	LT-ETEC (%)	ST-ETEC (%)	
<b>Asien<sup>b</sup></b>					
Südasien	7 (58,3)	18 (36,0)	7 (31,8)	5 (27,8)	
Südostasien	0	5 (10,0)	2 (9,1)	1 (5,6)	
Ostasien	1 (8,3)	1 (2,0)	1 (4,5)	1 (5,6)	
Zentralasien	0	1 (2,0)	0	0	
Mittlerer Osten	0	2 (4,0)	3 (13,6)	0	
Total	8 (66,7)	27 (54,0)	13 (59,1)	7 (38,9)	
<b>Afrika</b>					
Westafrika	0	6 (12,0)	2 (9,1)	2 (11,1)	
Ostafrika	3 (25,0)	4 (8,0)	1 (4,5)	4 (22,2)	
Nordafrika	0	8 (16,0)	0	3 (16,7)	
Zentralafrika	0	0	0	0	
Südliches Afrika	0	2 (4,0)	1 (4,5)	0	
Total	3 (25,0)	20 (40,0)	4 (18,2)	9 (50,0)	
<b>Latein-amerika</b>					
Zentralamerika	0	1 (2,0)	2 (9,1)	1 (5,6)	
Karibik	0	0	0	0	
Südamerika	0	2 (4,0)	2 (9,1)	1 (5,6)	
Total	0	3 (6,0)	4 (18,2)	2 (11,1)	
Nordamerika	0	0	0	0	
Australien und Ozeanien	0	0	0	0	
Russland	0	0	0	0	
Europa <sup>c</sup>	1 (8,3)	0	1 (4,5)	0	
Außerhalb Europas	11 (91,7)	50 (100)	21 (95,5)	18 (100)	
Gesamt	12 (100)	50 (100)	22 (100)	18 (100)	

<sup>a</sup> Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge innerhalb von 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominale Schmerzen) berichteten.

<sup>b</sup> Asien ohne Russland.

<sup>c</sup> Europa ohne Russland.

## 4. ERGEBNISSE

**Tabelle 5b:**

Reiseziele der 114 Patienten der Fallgruppe<sup>a</sup> aufgeteilt auf die Gesamtanzahl intestinaler Infektionen<sup>b</sup> mit Ermittlung eines relativen Risikos<sup>c</sup> für das Auftreten einer Reisediarrhö.

Reiseziel	Region	Anzahl intestinaler Infektionen <sup>b</sup>	Anzahl der Flugpassagiere (Millionen) <sup>d</sup>	RR <sup>c</sup>
<b>Asien<sup>e</sup></b>				
	Südasien	37 (36,3)	1,133	2,58
	Südostasien	8 (7,8)	1,478	0,43
	Ostasien	4 (3,9)	2,458	0,13
	Zentralasien	1 (1,0)	0,192	0,41
	Mittlerer Osten	5 (4,9)	1,855	0,21
	Total	55 (53,9)	7,116	0,62
<b>Afrika</b>				
	Westafrika	10 (9,8)	0,191	4,14
	Ostafrika	12 (11,8)	0,290	3,27
	Nordafrika	11 (10,8)	2,423	0,36
	Zentralafrika	0	0,018	0
	Südliches Afrika	3 (2,9)	0,634	0,37
	Total	36 (35,3)	3,556	0,80
<b>Lateinamerika</b>				
	Zentralamerika	4 (3,9)	0,316	1,00 <sup>e</sup>
	Karibik	0	0,496	0
	Südamerika	5 (4,9)	0,790	0,50
	Total	9 (8,8)	1,602	0,44
<b>Nordamerika</b>				
		0	6,954	0
<b>Australien und Ozeanien</b>				
		0	0,309	0
<b>Russland</b>				
		0	0,132	0
<b>Europa<sup>f</sup></b>				
		2 (2,0)	N.A.	N.A.
<b>Außerhalb Europas</b>				
		100 (98,0)	19,669	0,65
<b>Gesamt</b>				
		102 (100)	N.A.	N.A.

N.A. = nicht anwendbar.

<sup>a</sup> Die Fallgruppe wurde definiert durch Patienten mit Durchfallsymptomatik, die über drei oder mehr ungeformte Stuhlgänge innerhalb von 24 Stunden und zusätzlich von mindestens einem weiteren typischen Symptom einer intestinalen Infektion (z.B. Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder abdominale Schmerzen) berichteten.

<sup>b</sup> Anzahl einer intestinalen Infektion mit Norovirus (Genogruppe I und II) oder EAEC oder LT-/ST-EPEC.

<sup>c</sup> Das Risiko für Reisende aus Deutschland, die nach Zentralamerika reisen, eine intestinale Infektion mit Norovirus (Genogruppe I und II) oder EAEC oder LT-/ST-EPEC zu erwerben, wurde als Referenzwert von 1,00 herangezogen. Das relative Risiko (RR) für Reisende aus Deutschland in andere Destinationen wurde anhand dieses Referenzwertes verglichen.

<sup>d</sup> Offizielle Anzahl an Flugpassagieren von Deutschland in tropische und subtropische Regionen in Asien, Afrika und Lateinamerika im Jahre 2008: 12.274.352 (Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Deutschland).

<sup>e</sup> Asien ohne Russland.

<sup>f</sup> Europa ohne Russland. Ein RR für Reisende von Deutschland aus in andere Destinationen Europas wurde nicht berechnet, da in diesem Fall die meisten Reisenden nicht mittels Flugverkehr reisten. Das RR wird nur anhand von Flugpassagieren ermittelt.



## 5. DISKUSSION

---

### 5. DISKUSSION

#### 5.1. Aussagekraft und Zuverlässigkeit der Studie

In der dieser vorliegenden Dissertation zugrunde liegenden Studie wurden zum einen Daten zum Reiseverhalten von Patienten mit und ohne Durchfallerkrankung erhoben. Zum anderen wurden Stuhlproben beider Patientengruppen mit parasitologischen, bakteriologischen und molekularbiologischen Labormethoden untersucht. Der Fokus der untersuchten Pathogene lag dabei auf dem Norovirus und ausgewählten *Escherichia coli*-Pathovaren, welche bereits in der Literatur mehrfach als weltweit häufige Ursachen einer Reisediarrhö beschrieben wurden [4, 7, 14, 15, 25, 28].

Dabei wurden nicht wie in den meisten anderen Studien bisher, ausschließlich Stuhlproben von an Durchfall erkrankten Reiserückkehrern aus nur einer Region untersucht, sondern von jenen die weltweit gereist waren [10, 14, 16, 33]. Diese Stuhlproben wurden mit einer Kontrollgruppe von durchfallfreien weltweit gereisten Patienten verglichen, sodass hier eine valide Aussage über die Prävalenz der potentiellen Enteropathogene und deren möglicher kausaler Zusammenhang mit der Reisediarrhö getroffen werden konnte.

Die vorliegende Studie stützt sich auf die bisher zuverlässigste Nachweismethode von *Escherichia coli*-Pathovaren. In vorausgegangenen Untersuchungen konnte nämlich gezeigt werden, dass zur Detektion von *Escherichia coli*-Pathovaren die PCR eine signifikant höhere Sensitivität und eine sehr hohe Spezifität im Vergleich zu anderen Nachweisverfahren, einschließlich der DNA-Hybridisierung, hat [44, 53, 54]. In einem großen Anteil von bis dahin Pathogen-negativen Stuhlproben von Patienten mit einer Durchfallsymptomatik konnte durch die Anwendung der PCR-Diagnostik letztendlich der Nachweis eines *Escherichia coli*-Pathovars erbracht werden und somit eine Ursache der Reisediarrhö nachvollzogen werden [7, 54, 55]. Die Sensitivität der PCR-Diagnostik wird durch die asymptomatische intestinale



## 5. DISKUSSION

---

Besiedelung von EAEC und anderen *Escherichia coli*-Pathovaren, wie sie bereits in vorherigen Studien beobachtet wurde [12, 43, 56], unterstrichen.

Die RT-PCR gilt als Goldstandard zum Nachweis des Norovirus. Mehrere Studien, in denen die hier verwendete RT-LAMP Methode untersucht wurde, bekräftigen diese Labortechnik als gleichwertiges Verfahren zum Nachweis des Norovirus im Vergleich zur RT-PCR bezüglich Sensitivität und Spezifität [45, 48, 51]. Dadurch kann sich die vorliegende Studie auch auf eine zuverlässige Labormethode zur Detektion des Norovirus stützen.

Die Studie hat allerdings auch gewisse Einschränkungen. Die Stuhlproben wurden nicht gezielt auf das Rotavirus untersucht, was besonders unter Kindern eines der häufigsten viralen Pathogene für eine Durchfallerkrankung sein dürfte. Da der Hauptanteil der Studienpopulation jedoch über 20 Jahre alt war, wurde auf den Einschluss dieses Enteropathogens verzichtet. Die Stuhlproben wurden auch nicht auf die Norovirus Genogruppen III bis V untersucht, da die Genogruppen I und II als die mit Abstand am häufigsten vorkommenden Genogruppen bekannt sind [33]. Weiterhin wurden die Patienten nach Vorstellung in der AITM der Ludwig-Maximilians-Universität München nicht nachbeobachtet, weswegen keine eindeutigen Daten und Aussagen über das Anhalten der Durchfallsymptomatik (letztendliche Durchfalldauer) evaluiert werden konnten.

### 5.2. Vergleich mit anderen Studien

In der vorliegenden Studie war EAEC mit 45% das am häufigsten nachgewiesene Enteropathogen innerhalb der Fallgruppe, wobei es in der Kontrollgruppe mit 16,4% signifikant seltener zu finden war. Aufgrund dieses Resultates kann postuliert werden, dass dieses Pathogen mit der Reisediarrhö in einem kausalen Zusammenhang steht.

## 5. DISKUSSION

---

ETEC konnte in mehr als 29% der Stuhlproben innerhalb der Fallgruppe nachgewiesen werden, womit es lediglich das zweit häufigste, detektierte Pathogen nach EAEC war. In vorherigen Studien wurde allerdings EAEC als das zweit verbreitetste Enteropathogen und ETEC als die häufigste Ursache einer Reisediarrhö weltweit beschrieben [7, 14, 15, 57, 58]. In bisherigen Studien wurden sowohl LT-ETEC als auch ST-ETEC als ursächliche Enteropathogene für eine Reisediarrhö beschrieben [16, 44]. Diese Studie zeigt allerdings lediglich eine signifikante Assoziation mit einer Reisediarrhö für ST-ETEC und keinen kausalen Zusammenhang für LT-ETEC mit einer Reisediarrhö. Im Vergleich zu vorherigen Studien kann diese Aussage getroffen werden, da die vorliegende Studie ein kontrolliertes Studiendesign aufweist und da die hohe Proportion an Koinfektionen bei der Analyse der Daten berücksichtigt wurde. Andere Studien, welche die Prävalenz von Enteropathogenen einer Reisediarrhö untersuchen, beinhalten diese Qualitätsmerkmale nicht [10, 14-16].

Unter Reiserückkehrern aus Afrika und Asien konnte EAEC in den analysierten Stuhlproben häufiger gefunden werden als ETEC, wohingegen die Prävalenz von ETEC höher unter Reiserückkehrern aus Lateinamerika war. Diese Erkenntnis zeigte sich bereits in vorausgegangenen Untersuchungen [7, 14].

Ähnlich zu vorherigen Untersuchungen zeigt die vorliegende Studie mit 11% innerhalb der Fallgruppe eine im Vergleich zu bakteriellen Pathogenen relativ geringe Prävalenz für Norovirus als Ursache einer Reisediarrhö [7]. Als eine der wichtigsten nicht-bakteriellen Ursachen einer Reisediarrhö können Noroviren dennoch, auch in Bezug auf die vorliegende Studie, betrachtet werden. Der Nachweis von Norovirus Genogruppe II war häufiger im Vergleich zur Genogruppe I. Diese Tatsache korreliert ebenfalls mit Darstellungen in der bisherigen Literatur, in welcher Norovirus Genogruppe II als vorherrschender Stamm in Krankheitsausbrüchen weltweit beschrieben wird [16, 30, 33].

Koinfektionen mit zwei oder mehreren Enteropathogenen waren unter der Studienpopulation weit verbreitet. In mehr als der Hälfte der Patienten der Fallgruppe konnten Koinfektionen mit

## 5. DISKUSSION

---

Protozoen oder Bakterien nachgewiesen werden. Es konnten des Weiteren, wie auch zuvor in einer Studie von Keskimäki et al. publiziert, signifikant mehr Koinfektionen pro Stuhlprobe in der Fall- als in der Kontrollgruppe detektiert werden. In diesen Fällen konnte folglich nicht eindeutig ein einzelnes Pathogen als die krankheitsauslösende Ursache festgestellt werden. Die hohe Rate an Koinfektionen innerhalb der Fallgruppe legt damit die Vermutung nahe, dass die Existenz von multiplen Enteropathogenen geeignetere Bedingungen darstellt, um eine symptomatische intestinale Infektion auszulösen [56]. Nichtsdestotrotz, unter den Stuhlproben der Fallgruppe, in denen eine Koinfektion festgestellt werden konnte, waren die am zahlreichsten gefundenen Erreger *Blastocystis hominis* und *Campylobacter jejuni*. Für beide Pathogene konnte eine signifikant höhere Prävalenz innerhalb der Fallgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe vorgefunden werden, wodurch beide Erreger als definitive Ursache einer Reisediarrhö vermerkt werden können. Wohingegen *Campylobacter jejuni* bereits mehrfach als ein häufiges bakterielles Enteropathogen für die Entstehung einer Reisediarrhö, insbesondere in Asien, beschrieben wurde, ist immer noch unklar ob *Blastocystis hominis* als obligat wirkendes Pathogen, assoziiert mit einer Durchfallsymptomatik, eingestuft werden kann [7, 35, 42]. Die vorliegende Studie veranschaulicht dennoch die neue Erkenntnis, dass *Blastocystis hominis* andere intestinale Pathogene ergänzen könnte, um eine Durchfallsymptomatik auszulösen.

Das höchste relative Risiko für die Entstehung einer Reisediarrhö durch Norovirus, EAEC oder ETEC wurde für Reisende in folgenden Regionen errechnet: Westafrika, Ostafrika und Südasien. Diese Beobachtung bestätigt jene Destinationen wie bereits vorbeschrieben als Hochrisiko-Regionen der Welt für das Auftreten einer Reisediarrhö [7, 59].

Die vorliegende Untersuchung zeigt mit 16% und 22% einen jeweils erwähnenswerten Nachweis von EAEC und LT-ETEC innerhalb der Kontrollgruppe. Eine asymptomatische intestinale Besiedelung von EAEC und anderen *Escherichia coli*-Pathovaren in Regionen von Entwicklungsländern wurde zuvor auch in weiteren Studien beobachtet [12, 43, 56]. Jener festgestellte hohe Anteil von einer asymptomatischen Besiedelung der Kontrollgruppe könnte

## 5. DISKUSSION

---

einerseits durch die weitaus größere Sensitivität der verwendeten PCR-Nachweismethoden erklärt werden. Andererseits ist für eine symptomatische Infektion mit EAEC und ETEC gewöhnlich eine hohe Infektionsdosis notwendig und zusätzlich hängt ein Ausbruch von Symptomen von der Immunität des Wirts und der individuellen genetischen Prädisposition des Patienten ab [7, 56, 60-62]. Insbesondere die hohe Rate an asymptomatischen LT-ETEC Infektionen könnte sich auf eine in der Literatur vorbeschriebene, natürliche Immunantwort gegen ETEC Infektionen beziehen [14, 63].

Die Detektionsraten für EAEC, LT-ETEC, ST-ETEC und Norovirus Genogruppe I und II innerhalb der Fallgruppe waren nicht signifikant unterschiedlich zwischen Fällen mit akuter und chronischer Reisediarrhö. Aus diesem Grund könnten alle erwähnten Enteropathogene sowohl mit einer akuten als auch mit einer chronischen Durchfallsymptomatik assoziiert sein. Da das Norovirus vornehmlich als Ursache einer akuten Gastroenteritis und Reisekrankheit bekannt ist [29, 64, 65], sind gerade in Bezug auf die hohe Prävalenz der bakteriellen Enteropathogene innerhalb der Kontrollgruppe in der vorliegenden Studie, weiterführende Untersuchungen, besonders zur Erörterung der chronischen Reisediarrhö, notwendig.

### 5.3. Schlussfolgerungen

Aus den genannten Ergebnissen kann man schließen, dass im Rahmen dieser Dissertation eine moderate Prävalenz von Norovirus, *Blastocystis hominis* und *Campylobacter jejuni* in den Stuhlproben von Reiserückkehrern mit einer Durchfallsymptomatik festgestellt werden konnte. Dahingegen zeigte sich eine hohe Prävalenz von EAEC und ETEC (LT-ETEC und ST-ETEC) unter den Reisenden mit einer Durchfallsymptomatik, insbesondere bei Reiserückkehrern aus Westafrika, Ostafrika und Südasien. Mittels des Vergleichs mit der Kontrollgruppe konnte verdeutlicht werden, dass die intestinalen Infektionen mit EAEC, ST-ETEC und *Campylobacter jejuni* in einem kausalen Zusammenhang mit der Reisediarrhö stehen. Andererseits konnte dies bei den anderen Enteropathogenen nicht festgestellt werden.

## 5. DISKUSSION

---

Darüber hinaus wurde durch diese Arbeit bestätigt, dass intestinale Koinfektionen mit einem oder mehreren Enteropathogenen sehr häufig vorkommen. Daraus kann postuliert werden, dass umfangreichere, diagnostische Untersuchungen von Stuhlproben notwendig sind, um diese Enteropathogene zu detektieren, um eine gezielte Therapie bei Patienten mit Reisediarrhö durchführen zu können.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

---

### 6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Durchfallerkrankung ist das häufigste Krankheitsbild unter Reisenden in tropischen und subtropischen Ländern. Dennoch sind Daten über das Spektrum und die Relevanz von Enteropathogenen bei international Reisenden begrenzt.

In der vorliegenden Studie wurden Stuhlproben von 114 Reiserückkehrern (Fallgruppe) vor allem aus tropischen und subtropischen Regionen für eine mikrobiologische Standarddiagnostik, sowie für eine spezifische und sensitive PCR-Diagnostik auf Norovirus Genogruppe I und Genogruppe II, auf enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC), sowie auf enterotoxigene *Escherichia coli* (ETEC), die ein hitzelabiles Toxin (LT-ETEC) und ein hitzestabiles Toxin (ST-ETEC) produzieren, gesammelt. Reisedaten, klinische Daten und laborspezifische Daten wurden mit einer Kontrollgruppe von 56 Reiserückkehrern ohne Durchfallsymptomatik verglichen. Dabei konnte innerhalb der Fallgruppe als häufigstes Enteropathogen EAEC in 45% der Stuhlproben nachgewiesen werden. Mit abnehmender Prävalenz folgten LT-ETEC (20%), ST-ETEC (16%), *Blastocystis hominis* (15%), *Campylobacter jejuni* (12%), Norovirus (11%), *Giardia lamblia* (6%), *Shigella spp.* (6%) und *Salmonella spp.*, *Cryptosporidium spp.*, sowie *Cyclospora cayetanensis* (jeweils 3%). Im Vergleich zu der Kontrollgruppe konnte jedoch lediglich für EAEC, ST-ETEC, *Blastocystis hominis* und *Campylobacter jejuni* eine signifikant höhere Prävalenz innerhalb der Fallgruppe beobachtet werden.

Koinfektionen mit zwei oder mehreren Enteropathogenen waren innerhalb der Studienpopulation weit verbreitet. In der Fallgruppe lag die Proportion der Koinfektionen bei 61%, wobei sie in der Kontrollgruppe bei 13% lag.

Unter den untersuchten Reisenden war Asien mit 54% das häufigste Reiseziel, gefolgt von Afrika mit 35% und Lateinamerika mit 9% der Reisenden.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

---

Das höchste relative Risiko für das Auftreten einer Durchfallerkrankung konnte allerdings für Westafrika, Ostafrika und Südasien berechnet werden.

Die vorliegende Studie konnte nachweisen, dass EAEC, ST-ETEC und *Campylobacter jejuni* die häufigsten Verursacher für eine Reisediarrhö unter Reiserückkehrern darstellen, und konnte sie damit als wichtige ätiologische Enteropathogene einer Reisediarrhö bestätigen. Hingegen konnte für LT-ETEC kein ursächlicher Zusammenhang mit einer Reisediarrhö festgestellt werden. Diese Aussage konnte getroffen werden, da die vorliegende Studie ein kontrolliertes Studiendesign beinhaltet und da die hohe Proportion an Koinfektionen bei der Analyse der Daten berücksichtigt wurde.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

### 7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Von Sonnenburg F, Tornieporth N, Waiyaki P, Lowe B, Peruski Jr. LF, DuPont HL, Mathewson JJ, Steffen R. **Risk and aetiology of diarrhoea at various tourist destinations.** Lancet **2000**; 356: 133-134.
2. Steffen R, Tornieporth N, Costa Clemens SA, Chatterjee S, Cavalcanti AM, Collard F, De Clecq N, DuPont HL, von Sonnenburg F. **Epidemiology of travelers' diarrhea: Details of a global survey.** J Travel Med **2004**; 11: 231-238.
3. Dickinson B, Surawicz CM. **Infectious Diarrhea: An Overview.** Curr Gastroenterol Rep **2014**; 16: 399.
4. Riddle MS, Sanders JW, Putnam SD, Tribble DR. **Incidence, etiology, and impact of diarrhea among long-term travelers (US military and similar populations): a systematic review.** Am J Trop Med **2006**; 74: 891-900.
5. Herbing KH. **Epidemiologie importierter Infektionskrankheiten.** Habilitationsschrift an der Ludwig-Maximilians-Universität München **2012**.
6. Silva FG, Figueiredo A, Varandas L. **Travelers' diarrhea in children visiting tropical countries.** J Travel Med **2009**; 16: 53-54.
7. DuPont HL. **Systematic review: the epidemiology and clinical features of travellers' diarrhoea.** Aliment Pharmacol Ther **2009**; 30: 187-196.



## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

8. Rack J, Wichmann O, Kamara B, Günther M, Cramer J, Schönfeld C, Henning T, Schwarz U, Mühlen M, Weitzel T, Friedrich-Jänicke B, Foroutan B, Jelinek T. **Risk and spectrum of diseases in travelers to popular tourist destinations.** J Travel Med **2005**; 12: 248-253.
9. Steffen R, Amitirigala I, Mutsch M. **Health risks among travellers – need for regular updates.** J Travel Med **2008**; 15: 145-146.
10. Steffen R, Collard F, Tornieporth N, Campbell-Forrester S, Ashley D, Thompson S, Mathewson JJ, Maes E, Stephenson B, DuPont HL, von Sonnenburg F. **Epidemiology, etiology, and impact of traveler's diarrhea in Jamaica.** JAMA **1999**; 281: 811-817.
11. Pawlowski SW, Warren CA, Guerrant R. **Diagnosis and treatment of acute or persistent diarrhea.** Gastroenterology **2009**; 136: 1874-1886.
12. Schultsz C, van den Ende J, Cobelens F, Vervoort T, van Gompel A, Wetsteyn JCFM, Dankert J. **Diarrheagenic *Escherichia coli* and acute and persistent diarrhea in returned travelers.** J Clin Microbiol **2000**; 38: 3550-3554.
13. DuPont HL, Capsuto EG. **Persistent diarrhea in travelers.** Clin Infect Dis **1996**; 22: 124-128.
14. Jiang ZD, Lowe B, Verenkar MP, Ashley D, Steffen R, Tornieporth N, von Sonnenburg F, Waiyaki P, DuPont HL. **Prevalence of enteric pathogens among international travelers with diarrhea acquired in Kenya (Mombasa), India (Goa), or Jamaica (Montego Bay).** J Infect Dis **2002**; 185: 497-502.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

15. Adachi JA, Jiang ZD, Mathewson JJ, Verenkar MP, Thompson S, Martinez-Sandoval F, Steffen R, Ericsson CD, DuPont HL. **Enter aggregative *Escherichia coli* as a major etiologic agent in traveler's diarrhea in 3 regions of the world.** Clin Infect Dis **2001**; 32: 1706-1709.
16. Ko G, Garcia C, Jiang ZD, Okhuysen PC, Belkind-Gerson J, Glass RI, DuPont HL. **Noroviruses as a cause of traveler's diarrhea among students from the United States visiting Mexico.** J Clin Microbiol **2005**; 43: 6126-6129.
17. Okhuysen PC. **Traveler's diarrhea due to intestinal protozoa.** Clin Infect Dis **2001**; 33: 110-114.
18. Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, Evengård B, Hedlund KO, Kärnell A, Löfdahl S, Svensson L, Weintraub A. **Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases.** Clin Infect Dis **2000**; 30: 770-778.
19. Taylor DN, Houston R, Shlim DR, Bhaibulaya M, Ungar BL, Echeverria P. **Etiology of diarrhea among travelers and foreign residents in Nepal.** JAMA **1988**; 260: 1245-1248.
20. Weintraub A. **Enter aggregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection.** J Med Microbiol **2007**; 56: 4-8.
21. Fang GD, Lima AA, Martins CV, Nataro JP, Guerrant RL. **Etiology and epidemiology of persistent diarrhea in northeastern Brazil: a hospital-based, prospective, case-control study.** J Pediatr Gastroenterol Nutr **1995**; 21: 137-144.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

22. Lima AA, Fang GD, Schorling JB, De Albuquerque L, Mcauliffe JF, Mota S, Leite R, Guerrant RL. **Persistent diarrhea in Northeast Brazil: Etiologies and interactions with malnutrition.** Acta Paediatr Suppl **1992**; 381: 39-44.
23. Bhan MK, Raj P, Levine MM, Kaper JB, Bhandari N, Srivastava R, Kumar R, Sazawal S. **Enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India.** J Infect Dis **1989**; 159: 1061-1064.
24. Navaneethan U, Giannella RA. **Mechanisms of infectious diarrhea.** Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol **2008**; 5: 637-647.
25. Black RE. **Epidemiology of travelers' diarrhea and relative importance of various pathogens.** Rev Infect Dis **1990**; 12: 73-79.
26. WHO, Initiative for Vaccine Research (IVR): **Diarrheal Diseases: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)**, (Updated February **2009**): <http://archive.is/3ulZ>
27. Mewis G. **Entwicklung einer Multiplex-PCR zum Nachweis Enteropathogener *Escherichia coli*.** Dissertation an der Charité-Universitätsmedizin Berlin **2004**.
28. Jiang ZD, Greenberg D, Nataro JP, Steffen R, DuPont HL. **Rate of occurrence and pathogenic effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* virulence factors in international travelers.** J Clin Microbiol **2002**; 40: 4185-4190.
29. Apelt N, Hartberger C, Campe H, Löscher T. **The Prevalence of Norovirus in returning international travelers with diarrhea.** BMC Infect Dis **2010**; 10: 131.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

30. Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Bresee JS, Parashar UD, Ando T, Glass RI. **Epidemiologic and molecular trends of “Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States.** J Infect Dis **2002**; 186: 1-7.
31. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. **Food-related illness and death in the United States.** Emerg Infect Dis **1999**; 5: 607-625.
32. Robert Koch Institut – Ratgeber für Ärzte: **Noroviren-Infektionen:**  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Noroviren.html;jsessionid=EE9CF6AC88EE5A92C41679EA89C0CBE2.2\\_cid390](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Noroviren.html;jsessionid=EE9CF6AC88EE5A92C41679EA89C0CBE2.2_cid390)
33. Chapin AR, Carpenter CM, Dudley WC, Gibson LC, Pratdesaba R, Torres O, Sanchez D, Belkind-Gerson J, Nyquist I, Kärnell A, Gustafsson B, Halpern JL, Bourgeois AL, Schwab KJ. **Prevalence of Norovirus among Visitors from the United States to Mexico and Guatemala who experience traveler’s diarrhea.** J Clin Microbiol **2005**; 43: 1112-1117.
34. Riddle MS. **Norovirus diagnostics and serology in travelers’ diarrhea – Where do we go from here?** J Travel Med **2014**; 21: 1-3.
35. Gallardo F, Gascón J, Ruiz J, Corachan M, Jimenez De Anta MT, Vila J. ***Campylobacter jejuni* as a cause of traveler’s diarrhea: clinical features and antimicrobial susceptibility.** J Travel Med **1998**; 5: 23-26.
36. Robert Koch Institut – Ratgeber für Ärzte: **Campylobacter-Infektionen:**  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Campylobacter.html](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Campylobacter.html)
37. Robert Koch Institut – Ratgeber für Ärzte: **Salmonellose (Salmonellen-Gastroenteritis):**  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Salmonellose.html](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Salmonellose.html)

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

38. Robert Koch Institut – Ratgeber für Ärzte: **Shigellose**:  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Shigellose.html](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Shigellose.html)
39. Robert Koch Institut – **Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2013**:  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch\\_2013.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2013.pdf?__blob=publicationFile)
40. Robert Koch Institut – **Steckbriefe seltener und importierter Infektionskrankheiten**:  
[http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/Steckbriefe/Steckbriefe\\_120606.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/Steckbriefe/Steckbriefe_120606.pdf?__blob=publicationFile)
41. Sohail MR, Fischer PR. *Blastocystis hominis* and travelers. Travel Med Infect Dis **2005**; 3: 33-38.
42. Shlim DR, Hoge CW, Rajah R, Rabold JG, Echeverria P. Is *Blastocystis hominis* a cause of diarrhea in travellers? A prospective controlled study in Nepal. Clin Infect Dis **1995**; 21: 97-101.
43. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev **1998**; 11: 142-201.
44. Caeiro JP, Estrada-Garcia MT, Jiang ZD, Mathewson JJ, Adachi JA, Steffen R, DuPont HL. Improved detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* among Patients with travelers' diarrhea, by use of the polymerase chain reaction technique. J Infect Dis **1999**; 180: 2053-2055.
45. Iturriza-Gómara M, Xerry J, Gallimore CI, Dockery C, Gray J. Evaluation of the Loopamp (loop-mediated isothermal amplification) kit for detecting Norovirus RNA in faecal samples. J Clin Virol **2008**; 42: 389-393.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

46. Kojima S, Kageyama T, Fukushi S, Hoshino FB, Shinohara M, Uchida K, Natori K, Takeda N, Katayama K. **Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses.** J Virol Methods **2002**; 100: 107-114.
47. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Takeda N, Katayama K. **Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR.** J Clin Microbiol **2003**; 41:1548-1557.
48. Fukuda S, Takao S, Kuwayama M, Shimazu Y, Miyazaki K. **Rapid detection of Norovirus from fecal specimens by real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay.** J Clin Microbiol **2006**; 44: 1376-1381.
49. McOrist AL, Jackson M, Bird AR. **A comparison of five methods for extraction of bacterial DNA from human faecal samples.** J Microbiol Methods **2002**; 50:131-139.
50. Grimes KA, Mohamed JA, DuPont HL, Padda RS, Jiang ZD, Flores J, Belkind-Gerson J, Martinez-Sandoval FG, Okhuysen PC. **PCR-based assay using occult blood detection cards for detection of diarrheagenic *Escherichia coli* in specimens from U.S. travelers to Mexico with acute diarrhea.** J Clin Microbiol **2008**; 46: 2227-2230.
51. Tomita N, Mori Y, Kanda H, Notomi T. **Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products.** Nat Protoc **2008**; 3: 877-882.
52. Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N. **Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses.** Virology **2002**; 299: 225-239.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

53. Aranda KRS, Fagundes-Neto U, Scaletsky ICA. **Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella spp.*** J Clin Microbiol **2004**; 42: 5849-5853.
54. Meraz IM, Jiang ZD, Ericsson CD, Bourgeois AL, Steffen R, Taylor DN, Hernandez N, DuPont HL. **Enterotoxigenic *Escherichia coli* and diffusely adherent *E coli* as likely causes of a proportion of pathogen-negative travelers' diarrhea – a PCR-based study.** J Travel Med **2008**; 15: 412-418.
55. Vargas M, Gascon J, Gallardo F, Jimenez De Anta MT, Vila J. **Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains detected by PCR in patients with travelers' diarrhea.** Clin Microbiol Infect **1998**; 4: 682-688.
56. Keskimäki M, Mattila L, Peltola H, Siitonen A. **Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in finns with or without diarrhea during a round-the-world trip.** J Clin Microbiol **2000**; 38: 4425-4429.
57. DuPont HL, Ericsson CD. **Prevention and treatment of traveler's diarrhea.** N Engl J Med **1993**; 328: 1821-1827.
58. Ericsson CD. **Traveler's diarrhea: epidemiology, prevention and self-treatment.** Infect Dis Clin North Am **1998**; 12: 285-303.
59. Shah N, DuPont HL, Ramsey DJ. **Global etiology of travelers' diarrhea: systematic review from 1973 to the present.** Am J Trop Med Hyg **2009**; 80: 609-614.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

---

60. Flores J, DuPont HL, Lee SA, Belkind-Gerson J, Paredes M, Mohamed JA, Armitige LY, Guo DC, Okhuysen PC. **Influence of host interleukin-10 polymorphisms on development of traveler's diarrhea due to heat-labile enterotoxin-producing *Escherichia coli* in travelers from the United States who are visiting Mexico.** Clin Vaccine Immunol **2008**; 15: 1194-1198.
61. Jiang ZD, Okhuysen PC, Guo DC, He R, King TM, DuPont HL, Milewicz DM. **Genetic susceptibility to enteroaggregative *Escherichia coli* diarrhea: polymorphism in the interleukin-8 promotor region.** J Infect Dis **2003**; 188: 506-511.
62. Rutter JM, Burrows MR, Sellwood R, Gibbons RA. **A genetic basis for resistance to enteric disease caused by *E. coli*.** Nature **1975**; 257: 135-136.
63. Rudin A, Wiklund G, Wenneras C, Qadri F. **Infection with colonization factor antigen I-expressing enterotoxigenic *Escherichia coli* boosts antibody responses against heterologous colonization factors in primed subjects.** Epidemiol Infect **1997**; 119: 391-393.
64. Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD. **Noroviruses: a comprehensive review.** J Clin Virol **2009**; 44: 1-8.
65. Koch J, Schneider T, Stark K, Schreier E. **Norovirusinfektionen in Deutschland.** Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz **2006**; 49: 296-309.



## 8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

### 8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AITM	Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin
bzw.	beziehungsweise
C°	Grad Celsius
CA	<i>California</i>
cDNA	<i>complementary deoxyribonucleic acid</i>
bp	Basenpaare
d.h.	das heißt
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
EAEC	enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
ETEC	enterotoxigene <i>Escherichia coli</i>
GA	<i>Georgia</i>
HEp-2-Zellen	Humane Epitheliomzellen Typ 2
LT	hitzelabiles Toxin
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
mM	Millimolar

## 8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

NaCl	Natriumchlorid
<i>P</i>	<i>P</i> -Wert/ <i>p</i> -value
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
pmol	Pikomol
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
RR	relatives Risiko
RT-LAMP	<i>reverse transcription loop-mediated isothermal amplification</i>
RT-PCR	<i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>
spp.	Spezies
ST	hitzestabiles Toxin
TX	<i>Texas</i>
U	<i>Unit</i> (Enzymeinheit)
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel
μl	Mikroliter

## **9. DANKSAGUNG**

---

### **9. DANKSAGUNG**

Herrn Prof. Dr. med. Thomas Löscher, dem Direktor des Tropeninstitutes, danke ich für die freundliche Überlassung des interessanten Themas und für die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn PD Dr. med. Karl-Heinz Herbinger danke ich für die hervorragende Betreuung, in Form seiner sachdienlichen Ratschläge und seiner kompetenten Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich allen beteiligten Mitarbeitern des Institutes für ihre freundliche Unterstützung danken.

## Eidesstattliche Versicherung

Paschke, Christopher

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema  
**Kontrollierte Studie zur Prävalenz  
von Enteropathogenen der Reisediarrhö  
unter Reiserückkehrern**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und  
alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als  
solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle  
einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in  
ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades  
eingereicht wurde.

Berlin, 20.04.2015

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Doktorandin/Doktorand